

SÉRIE A N° 972  
N° D'ORDRE : 1800

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**Eudoxie-Dwocha BACHRACH**

DOCTEUR EN MÉDECINE

**1<sup>re</sup> THÈSE.** — VARIATIONS BIOLOGIQUES D'UN ORGANISME  
MONOCELLULAIRE : ACCOUTUMANCE ET ANAPHYLAXIE CHEZ  
LE BACILLE LACTIQUE.

**2<sup>e</sup> THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 10 Juin 1924, devant la Commission d'examen

MM. LAPICQUE..... *Président.*

GENTIL..... } *Examineurs.*  
GUILLIERMOND. }

PARIS

MASSON ET C<sup>ie</sup>, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1924



SÉRIE A N° 972  
N° D'ORDRE : 1800

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**Eudoxie-Dwocha BACHRACH**

DOCTEUR EN MÉDECINE

**1<sup>re</sup> THÈSE.** — VARIATIONS BIOLOGIQUES D'UN ORGANISME  
MONOCELLULAIRE : ACCOUTUMANCE ET ANAPHYLAXIE CHEZ  
LE BACILLE LACTIQUE.

**2<sup>e</sup> THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 10 Juin 1924, devant la Commission d'examen.

MM. LAPICQUE,..... *Président.*

GENTIL..... }  
GUILLIERMOND. } *Examineurs.*

PARIS

MASSON ET C<sup>ie</sup>, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

—  
1924

# FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS



MM.

*Doyen* . . . . . MOLLIARD, *Professeur*. Physiologie végétale.

*Doyen honoraire*. . . . . P. APPELL.

*Professeurs honoraires*. { P. PUISEUX.  
VÉLAIN.  
BOUSSINESQ.  
PRUVOT.



Émile PICARD . . . Analyse supérieure et algèbre supér.  
KÖNIGS . . . . . Mécanique physique et expérimentale.  
GOURSAT . . . . . Calcul différentiel et calcul intégral.  
HALLER . . . . . Chimie organique.  
JOANNIS . . . . . Chimie (Enseignement P. C. N.).  
JANET . . . . . Électrotechnique générale.  
WALLERANT . . . . Minéralogie.  
ANDOYER . . . . . Astronomie.  
PAINLEVÉ . . . . . Mécanique analytique et mécanique céleste.  
HAUG . . . . . Géologie.  
H. LE CHATELIER . . Chimie générale.  
Gabriel BERTRAND . . Chimie biologique.  
M<sup>me</sup> P. CURIE . . . . Physique générale et radioactivité.  
CAULLERY . . . . . Zoologie (Evolution des êtres organisés).  
C. CHABRIÉ . . . . . Chimie appliquée.  
G. URBAIN . . . . . Chimie minérale.  
Émile BOREL . . . . Calcul des probabilités et Physique mathém.  
MARCHIS . . . . . Aviation.  
Jean PERRIN . . . . Chimie physique.  
ABRAHAM . . . . . Physique.  
CARTAN . . . . . Mécanique rationnelle.  
Cl. GUICHARD . . . . Géométrie supérieure.  
LAPICQUE . . . . . Physiologie générale.  
GENTIL . . . . . Géographie physique.  
VESSIOT . . . . . Théorie des groupes et calcul des variations.  
COTTON . . . . . Physique générale.  
DRACH . . . . . Application de l'analyse à la géométrie.  
C. FABRY . . . . . Physique.  
Charles PÉREZ . . . . Zoologie.  
Léon BERTRAND . . . Géologie appliquée et géologie générale.  
LESPIEAU . . . . . Théories chimiques.  
LEDUC . . . . . Physique théorique et Physique céleste.  
RABAUD . . . . . Biologie expérimentale.  
PORTIER . . . . . Physiologie comparée.  
DANGEARD . . . . . Botanique.  
MONTEL . . . . . Mathématiques générales.  
MAURAIN . . . . . Physique du globe.  
WINTREBERT . . . . Anatomie et Histologie comparées.  
DUBOSCQ . . . . . Biologie maritime.  
  
HÉROUARD . . . . . Zoologie.  
Rémy PERRIER . . . Zoologie (Enseignement P. C. N.).  
SAGNAC . . . . . Physique théorique et Physique céleste.  
BLAISE . . . . . Chimie organique.  
PÉCHARD . . . . . Chimie (Enseignement P. C. N.).  
AUGER . . . . . Chimie analytique.  
M. GUICHARD . . . . Chimie générale.  
GUILLET . . . . . Physique.  
JULIA . . . . . Mathématiques générales.  
MAUGUIN . . . . . Minéralogie.  
BLARINGHEM . . . . Botanique.  
MICHEL-LÉVY . . . . Pétrographie.

*Secrétaires*. . . . . Daniel TOMBECK.

A LA MÉMOIRE  
DE MON PÈRE,

DE MES ONCLES LÉON ET JACOB,

ET DE MES COUSINS  
BORIS ET SAADI.



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

A  
MA MÈRE

A MA TANTE

ET  
A MON FRÈRE  
MOÏSE.



*A mon illustre Maître*

*CHARLES RICHET*

*Membre de l'Institut, Professeur de Physiologie  
à la Faculté de Médecine,*

*ma gratitude et mon admiration.*

*A mon estimé ami*

*HENRY CARDOT*

*Chef de Laboratoire à la Faculté de Médecine,*

*en souvenir de notre étroite collaboration,  
ce témoignage de profonde reconnaissance.*



VARIATIONS BIOLOGIQUES  
D'UN ORGANISME MONOCELLULAIRE

ACCOUTUMANCE ET ANAPHYLAXIE  
CHEZ LE BACILLE LACTIQUE

Par Eudoxie-Dwocha BACHRACH

DOCTEUR EN MÉDECINE

INTRODUCTION

Quand on modifie par une intervention expérimentale les conditions du milieu auquel un organisme est adapté et où il évolue, on peut distinguer trois cas qui concernent les modifications cellulaires concomitantes :

1° Modifications ne dépassant pas la durée de la vie d'une cellule, soit parce qu'elles sont incompatibles avec la bipartition, soit qu'il s'agisse de cellules incapables de se reproduire ;

2° Modifications se perpétuant au cours des bipartitions cellulaires : variations somatiques, variations de bourgeon, variations chez les microbes, bref toutes les variations se produisant dans des lignées cellulaires où n'intervient pas le phénomène sexuel ;

3° Variations se perpétuant par les gamètes : acquisitions héréditaires proprement dites.

C'est dans ce dernier cas surtout qu'on a l'habitude de parler d'hérédité.

Mais il semble qu'on doive placer l'étude des variations

transmissibles par voie asexuée — « hérédité cellulaire » — à la base de toute étude relative à l'hérédité.

Aussi avons-nous jugé intéressant de faire dans une recherche systématique l'étude des variations d'un organisme monocellulaire se multipliant par bipartition.

Nous nous tiendrons donc en dehors du troisième cas considéré ci-dessus, et nous mettrons en évidence les caractères nouveaux acquis par la cellule.

Ceux-ci peuvent être stables, transmissibles ou héréditaires, si on donne à la définition de l'hérédité le sens très large de transmission à la descendance des caractères d'une cellule originelle.

On n'aurait évidemment pas le droit de généraliser sans précaution les résultats obtenus sur ces êtres monocellulaires, chez lesquels n'intervient pas la conjugaison. Sans doute pourrait-on faire des rapprochements très intéressants entre ces modifications des organismes monocellulaires et les modifications des cellules dans un organisme supérieur à l'état d'immunité ou d'anaphylaxie. On sait l'importance qu'a prise dans la littérature scientifique l'étude de ces questions. Il suffit, pour s'en convaincre, de se reporter à quelques-uns des exposés généraux que nous donnons dans notre Index bibliographique (75, 161, 165). On se rend compte aussi de ce qu'il y a de prématuré dans les essais de synthèse tentés dans ce domaine. Aussi nous bornerons-nous à apporter à l'étude de ces grandes questions sur les variations et l'hérédité cellulaire une contribution relative à l'étude des seuls microorganismes.

Dans nos exposés historiques, nous nous efforcerons de réunir tous les faits essentiels relatifs à la variation chez les êtres inférieurs se reproduisant par voie asexuée. Nous laisserons de côté tous ceux qui sont relatifs aux organismes supérieurs, animaux et végétaux ; dans notre Index bibliographique, nous nous bornerons à indiquer quelques ouvrages d'ensemble où sont examinés les principaux travaux et les résultats essentiels qui intéressent ces questions (6, 21-23, 142, 192).

Nos travaux sont la suite de ceux qui ont été entrepris

depuis de longues années par notre très cher maître Charles Richet, dont nous ne pouvons trop apprécier l'influence sur notre formation scientifique. C'est dans son laboratoire de la Faculté de médecine qu'ont été poursuivies toutes nos recherches.

Nous nous souviendrons chaleureusement de notre amicale collaboration avec M. H. CARDOT, chef du Laboratoire de physiologie. Nous lui exprimons une bien sincère et profonde reconnaissance.

Qu'il me soit permis de rappeler ici la dette de reconnaissance que j'ai contractée près de mes maîtres de la Faculté des Sciences et d'adresser un souvenir ému à la mémoire de Gaston Bonnier, qui m'a réservé à plusieurs reprises un accueil plein de bienveillance et d'intérêt.

C'est au cours de M. le professeur Lapicque qu'il m'a été donné de pénétrer dans des chapitres de la physiologie jusqu'alors inconnus pour moi. Je lui suis aussi très redevable des précieux conseils et appuis qu'il a bien voulu me donner.

Mes remerciements vont également à M. le doyen Molliard, dont les cours m'ont ouvert des horizons nouveaux vers la biologie végétale, et à M. le professeur Portier pour l'amabilité dont il a toujours fait preuve envers moi.

M. le Dr H. Laugier, chef des travaux de physiologie, a toujours été pour moi un confrère très dévoué et plein d'obligeance.

Je remercie aussi M. le professeur agrégé Gautrelet, directeur de laboratoire à l'École des Hautes-Études, pour son attitude pleine de cordialité et de bienveillance.

A tous mes maîtres de la Faculté de médecine de Lausanne, ainsi qu'aux professeurs I. Tchoujevsky, de l'Université de Saratof, et W.-R. Hess, de l'Université de Zürich, j'exprime ma profonde gratitude pour leur enseignement, car il a développé en moi l'amour de la science et le goût de la recherche scientifique.

---

## CHAPITRE PREMIER

### GÉNÉRALITÉS ET MÉTHODES.

#### 1<sup>o</sup> De la fermentation lactique.

Nos expériences ont été faites sur le ferment lactique.

Nous ne donnerons pas ici l'analyse des nombreuses recherches qui ont suivi le mémoire fondamental de Pasteur (134) établissant l'origine microbienne de la fermentation du lait et qui, peu à peu, ont précisé nos connaissances sur la transformation du sucre de lait en acide lactique.

Il faut citer notamment celles de Duclaux (31), de Richet (147, 159, 148), de Kayser (87-89), de Löhnis (107, 108), de Mazé (115), de Gorini (69), etc.

Ces recherches ont été consacrées à la fermentation lactique elle-même ou à ses applications industrielles ; elles montrent l'extrême complexité de la question : multiplicité des agents microbiens capables d'effectuer la transformation (Bacilles, Microcoques, Streptocoques) ; suivant la nature du milieu et l'espèce microbienne, modalité variable du processus de fermentation, variables possibilités d'attaque des divers sucres (pentoses, hexoses, disaccharides, polysaccharides), des alcools polyatomiques et même des protéines ; diversité dans la nature de l'acide lactique obtenu (inactif, droit ou gauche) et dans les produits secondaires de la fermentation (hydrogène, acide carbonique, formique, acétique, propionique, succinique, alcool éthylique, mannite, acétone, etc.) ; température minimale, maximale ou optimale variant avec l'espèce microbienne, ainsi qu'avec la nature du milieu.

Comme la forme et aussi les caractères biochimiques d'un même ferment lactique peuvent se modifier avec les conditions de culture, c'est dire quelle confusion règne encore dans le classement systématique de ces êtres.

Retenons seulement qu'on reconnaît généralement pour ferments lactiques vrais ceux d'entre eux qui se montrent capables de transformer le lactose, pourvu qu'il ne soit pas en excès, en acide lactique et surtout en acide lactique inactif, avec un rendement de 90 à 98 p. 100.

Cette transformation s'accomplit en fonction du temps suivant une loi logarithmique (Duclaux, 31). Lorsque le sucre est en excès, la limite d'acidité pour laquelle la fermentation s'arrête mesure la puissance du ferment. Elle varie avec les divers ferments et aussi avec la composition du milieu, notamment sa richesse en peptones (Richet, Kayser).

Par application du procédé utilisé dans le cas de la levure de bière, Büchner et Meisenheimer (12), puis Hertzog (84) ont pu démontrer l'existence chez les ferments lactiques d'une diastase dédoublant les disaccharides ; elle peut ainsi être séparée de l'activité du microbe vivant.

Remarquons aussi que les ferments lactiques n'ont pu, jusqu'à présent, être cultivés dans des milieux synthétiques simples, à base de substances minérales, de sucres et d'acides aminés. Leur culture nécessite l'emploi de liquides relativement complexes, tels que lait, petit-lait, bouillons de légumes, solutions peptonées. Ce ne sont pas là, il faut en convenir, des conditions facilitant l'expérimentation faite en vue de projeter quelque clarté sur les processus biochimiques de la fermentation. Mais, pour d'autres recherches, comme nous espérons en convaincre le lecteur dans les pages qui suivent, ces microorganismes constituent un excellent objet d'expérimentation.

## **2° Origine et caractères du Bacille lactique utilisé dans les expériences.**

Le ferment en question a été initialement prélevé à partir d'un lait de la région de l'Oise et avait déjà été cultivé en cultures pures pendant plusieurs années au laboratoire. Néanmoins, au début de nos recherches, nous l'avons soumis à des épreuves de purification par la méthode des dilutions,

afin d'avoir, autant que possible, une souche provenant d'une cellule unique.

Nous procédions ainsi : 100 tubes de milieu étaient ensemencés par une goutte de semence suffisamment diluée pour que 60 tubes seulement fermentent, 40 restant stériles. L'une des cultures qui avaient poussé a été diluée à son tour pour ensemencer 31 tubes, parmi lesquels deux seulement ont renfermé des germes et se sont développés. C'est l'un de ces tubes qui a été la souche pour toutes nos expériences ultérieures.

On sait que de nombreuses espèces doivent prendre place dans le groupe des Bacilles lactiques. Nous renvoyons à ce propos les lecteurs aux traités classiques et aux travaux spéciaux relatifs à la morphologie et à la physiologie des ferments lactiques (4, 5, 83, 87, 107, 108, 112, 137, 189). Ces diverses espèces lactiques sont aussi très distinctes souvent au point de vue de leurs propriétés physiologiques, mais la plupart d'entre elles ont ce caractère commun de ne pas former de spores et, par conséquent, d'être détruites par chauffage à une température relativement basse.

Notre Bacille, voisin, nous semble-t-il, du Bacille de Delbrück, se présente comme un bâtonnet assez allongé, en moyenne de 3 à 4  $\mu$  le long sur 0  $\mu$ ,4 de large. Ces bâtonnets ne restent qu'exceptionnellement groupés en file de plus de trois individus. Le Bacille en question, qui est anaérobie facultatif, trouble d'une façon très uniforme le milieu fermentant, et ce n'est généralement qu'après vingt-quatre heures de fermentation à 38° qu'on commence à observer sur le fond des cultures un léger dépôt formé par des Bacilles morts.

Initialement nos souches avaient la propriété de coaguler rapidement le lait à 38°, de pouvoir être cultivées en stries sur petit-lait gélosé ou en piqure sur petit-lait gélatiné (formation de très petites colonies sphériques). La souche originelle, avant les purifications que nous lui avons fait subir par la méthode des dilutions, avait été isolée à partir d'une de ces colonies sur gélatine. Mais, à mesure que ce ferment a été cultivé sur le milieu aux peptones de caséine et lactose, il a perdu graduellement le pouvoir de se développer

facilement sur les milieux solides et de faire coaguler le lait rapidement.

Le développement n'a pas lieu de façon appréciable en dessous de 15°. La température optima est comprise entre 36° et 37°; toute végétation cesse au delà de 44°. Ces données ont été établies de façon précise par les expériences que nous avons faites à l'aide du bloc à série de températures constantes de Cardot, Laugier et Legendre (1).

### 3° Préparation du milieu de culture.

Nous nous sommes constamment servis d'un milieu renfermant des peptones de caséine et du lactose. Il présente sur le lait et le petit-lait l'avantage : 1° de permettre des fermentations plus rapides ; 2° de n'être le siège d'aucune précipitation au cours de la fermentation ; il peut en effet y avoir intérêt, comme nous aurons occasion de le voir, à opérer avec des milieux restant toujours bien homogènes ; une coagulation survenant au cours de la fermentation introduit naturellement une hétérogénéité dont Ch. Richet (154) a signalé autrefois l'importance.

La préparation du milieu est la suivante : dans un peu d'eau, on délaye 200 grammes de caséine finement moulue et 20 grammes de pancréatine commerciale. Le tout est bien malaxé pour être transformé autant que possible en une bouillie homogène, dont on amène le volume à un litre par addition d'eau. Ce mélange est placé pendant vingt-quatre heures à l'étuve à 50°, puis filtré sur linge pour séparer la caséine non digérée. Le filtrat obtenu est fortement acide ; on neutralise environ les deux tiers de son acidité titrale à la potasse, et on le porte à 115° pendant dix minutes. Cette fois-ci, après filtration sur papier, on obtient un liquide bien limpide, qu'on ramène au volume d'un litre par addition d'eau distillée. D'autre part, 20 grammes de lactose sont dissous dans un litre d'eau distillée, et ajoutés au liquide précédent. Le milieu ainsi réalisé ne convient pas encore pour les cultures ; il faut lui donner l'acidité nécessaire pour un rapide départ de la fermentation.

### 4° Influence de l'acidité initiale sur la fermentation.

Le milieu précédent, très légèrement acide, est réparti en tubes par masses de 10 centimètres cubes ; dans les divers

(1) H. CARDOT, H. LAUGIER, R. LEGENDRE, *C. R. Ac. Sc.* 26 déc. 1923, et *Recherches et Inventions*, mars 1924.

tubes de la série, on fait tomber 0, 1, 2, 3... gouttes d'une solution normale d'acide lactique, de façon à réaliser une gamme d'acidités allant du voisinage de la neutralité à une acidité supérieure à 0, 1 N. Après stérilisation, tous les tubes sont identiquement ensemencés et placés à l'étuve à 38°. Au bout d'un temps donné, on détermine par dosage, à l'aide d'une solution de potasse, l'acidité développée dans chaque tube par

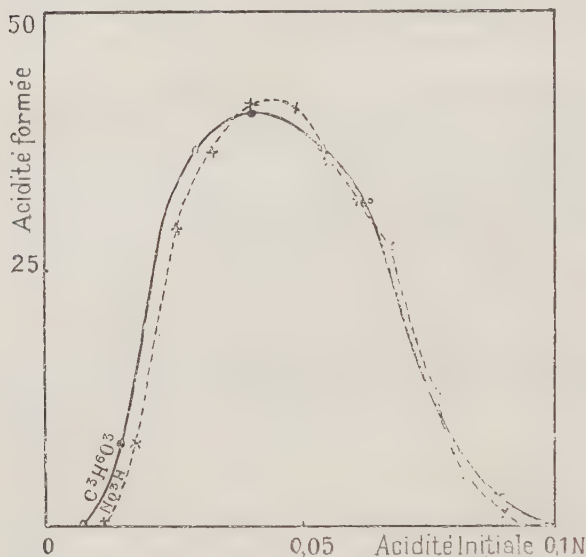


Fig. 1. — Influence de l'acidité initiale sur la fermentation lactique.

(— Acidification avec  $C^3H^5O^3$ .  
 --- Acidification avec  $NO^3H$ )

posent suivant une courbe en cloche (fig. 1), d'après laquelle il est facile de déterminer l'acidité initiale la plus favorable pour le départ de la fermentation. Les cultures produisant l'acidité maxima au bout de vingt-quatre heures ont aussi été les premières à se troubler et montrent, par la suite, les suspensions bactériennes les plus denses. D'ailleurs, il est facile de constater que l'optimum d'acidité reste sensiblement le même, que les dosages soient faits après douze heures seulement ou après vingt-quatre, et même quarante-huit heures de fermentation. La courbe précédente se modifie dans sa forme, s'arrondit davantage au voisinage du maximum d'acidité développée, mais l'acidité initiale qui correspond à ce maximum reste

la fermentation en déduisant de l'acidité totale trouvée l'acidité initiale.

Le résultat donné par l'expérience est le suivant (1). En portant en abscisses l'acidité initiale, et en ordonnées l'acidité développée par la fermentation, les points expérimentaux se dis-

toujours la même. Ceci paraît indiquer que c'est seulement pendant les premières heures de la fermentation que l'acidité du milieu exerce une influence prépondérante sur la multiplication des microbes et règle ainsi, dès le début, la marche de la fermentation, tandis que, dans les phases suivantes, l'influence de l'acidité du milieu sans cesse croissante est beaucoup plus restreinte.

Nous avons recherché aussi ce qui se passait quand on employait d'autres acides minéraux ou organiques pour acidifier le milieu, et nous avons déterminé l'optimum de l'acidité titrable à la potasse et le *pH* optimum. Avec les différents acides étudiés, les valeurs trouvées sont voisines les unes des autres ( $\text{H}^3\text{PO}^4$  excepté) : *pH* optimum, 4,5 ; et la quantité d'acide formé par le ferment en un temps donné est toujours à peu près la même, quel que soit l'acide employé pour l'acidification initiale.

Néanmoins, nous avons toujours employé pour cette opération l'acide lactique. Le *pH* optimum à réaliser étant donc de 4,5, la quantité d'acide lactique à ajouter varie cependant dans la préparation des divers milieux. L'effet tampon produit par les substances protéiques intervient. En opérant sur des milieux plus ou moins dilués, nous avons constaté qu'il y a proportionnalité entre la teneur du milieu en peptone et la quantité d'acide ajoutée pour réaliser le *pH* optimum (2). Une remarque intéressante peut être faite : pour obtenir des fermentations très rapides et très intenses, il conviendra d'utiliser des milieux très riches en peptones. Nous avons constaté, en effet, qu'en maintenant le taux du lactose constant et le *pH* à l'optimum, l'acidité formée par le ferment en vingt-quatre heures augmente avec la concentration en peptones, suivant une courbe qui se confond sensiblement avec une branche d'hyperbole (fig. 2).

Ces résultats peuvent être rapprochés de ceux de Kayser (90) qui a montré antérieurement que le pouvoir ferment du Bacille est plus grand sur un milieu riche en peptone que sur un milieu pauvre.

| Azote total par litre. | Acidité formée en 24 heures. |
|------------------------|------------------------------|
| Gr.                    | —                            |
| 11,5                   | 1,26 N                       |
| 6,4                    | 1,02 N                       |
| 4,5                    | 0,92 N                       |
| 3,1                    | 0,68 N                       |
| 1,4                    | 0,50 N                       |

La valeur indiquée pour le  $pH$  optimum n'est valable que

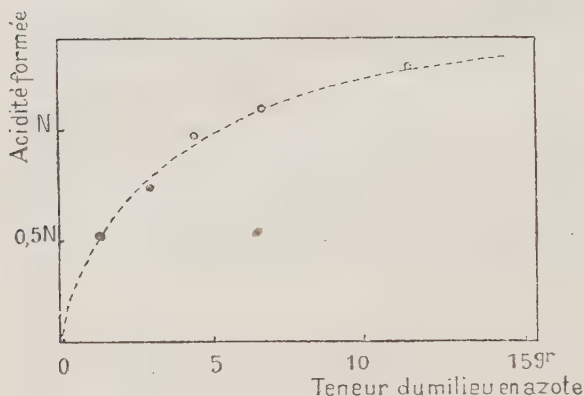


Fig. 2. — Influence de la concentration du milieu en peptone sur la marche de la fermentation lactique.

pour la souche que nous avons utilisée. Sur des Bacilles lactiques d'autre provenance, nous avons trouvé des valeurs différentes.

D'autre part, avec la même souche lactique, le  $pH$  optimum varie dès qu'on change le milieu (petit-lait par exemple).

### 3° Conditions de fermentation et d'ensemencement.

Nous venons de voir que l'intensité des fermentations varie notablement avec la teneur en peptones, même en réalisant toujours l'acidité optima. Or il est presque impossible d'obtenir dans deux digestions faites à différents moments des liquides rigoureusement semblables au point de vue de leur richesse en peptones, même en s'efforçant de maintenir bien constantes les conditions expérimentales. D'autre part, ces milieux doivent être stérilisés avant l'usage, et la moindre différence dans les procédés de stérilisation influe sur les qualités du milieu, et notamment peut modifier plus ou moins son  $pH$ . Aussi nous sommes-nous généralement astreints, pour éliminer toute influence due à un changement de milieu, à préparer une masse suffisante de liquide et à la stériliser en une fois, après répartition dans les tubes de cul-

ture, afin que toute expérience, même de longue durée, puisse être faite avec le même milieu.

La répartition se fait par masse de 5 centimètres cubes, dans des tubes à essais ordinaires, mais de même calibre, l'influence de la surface libre jouant un rôle assez important sur la marche de la fermentation lactique, comme l'ont montré déjà les expériences de Richet (147, 148) et d'autres auteurs. Cette influence s'exerce tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre, suivant la race de bacilles lactiques sur laquelle on opère. Les uns sont assez nettement aérobies, d'autres sont des anaérobies facultatifs ; mais la marche de la fermentation et les produits formés peuvent, comme Kayser (88, 89) l'a montré, différer suivant que l'air est présent ou absent. Notre Bacille pousse légèrement mieux dans les tubes étroits que dans les tubes larges et, d'ailleurs, il pousse très bien dans le vide ou dans une atmosphère d'acide carbonique, très légèrement mieux même que dans l'atmosphère normale.

Nos souches, soit sur les milieux normaux, soit sur les milieux additionnés de toxiques, comme il sera dit plus loin, ont toujours été cultivées en permanence à 38° et réensemencées toutes les vingt-quatre heures ou toutes les quarante-huit heures, suivant les expériences.

#### 6°. Dosage des cultures.

Pour les recherches qui vont être exposées, il s'agit de trouver un procédé permettant de comparer des souches ayant subi l'action des toxiques avec des souches normales. Comment cette comparaison peut-elle être faite?

Une fermentation est définie à un moment donné : 1° par le nombre des microbes existant dans l'unité de volume du liquide fermentant ; 2° par l'activité biochimique (pouvoir fermentatif) de la cellule microbienne. Connaissant ces deux facteurs, on en pourrait déduire avec exactitude, dans le cas qui nous occupe, la quantité d'acide lactique formée en un court intervalle de temps à partir d'un instant considéré. Mais, pour définir la fermentation au cours de toutes ses

phases, il faudrait en plus avoir précisé la loi de multiplication des germes et les conditions de leur destruction par les produits de fermentation. Des expériences peuvent être orientées dans cette direction. Elles seront généralement laborieuses. En outre, les résultats qu'elles donneront ne semblent pas devoir être plus précis que ceux obtenus par des procédés où on évalue un résultat global dépendant à la fois du pouvoir fermentatif et de la multiplication.

Examinons en effet par quelle méthode on peut se proposer d'évaluer le nombre des germes.

1<sup>o</sup> On ne peut guère songer à la *numération directe*, quand il s'agit d'un Bacille de petite taille. De telles mesures sont possibles avec les Levures par exemple ; elles seraient ici très longues et comportant des erreurs considérables.

Le procédé souvent utilisé en bactériologie, qui consiste à ensemer des plaques de gélose par une culture très diluée et à compter le nombre des colonies obtenues, ne peut fournir qu'un ordre de grandeur, c'est-à-dire une mesure très approximative. Cette méthode, d'ailleurs très longue aussi, ne peut être davantage utilisée dans des recherches telles que celles que nous avons entreprises.

2<sup>o</sup> Une évaluation indirecte de la multiplication des germes peut être obtenue à l'aide de *procédés opacimétriques et néphélométriques*.

Mais il semble que de telles méthodes ne conviennent pas lorsqu'il s'agit de comparer, comme nous avons à le faire, deux souches microbiennes dont les cellules peuvent n'être pas absolument identiques, soit au point de vue de leurs dimensions, soit peut-être aussi au point de vue de la constitution de leur membrane. Cardot et Laugier (17), opérant sur des Levures, ont en effet signalé des désaccords entre les résultats fournis par la néphélémie et les numérations directes.

3<sup>o</sup> Un troisième procédé consiste à séparer les germes en les centrifugeant et à les *peser après dessiccation* ou à *doser la matière azotée* qu'ils renferment. Dans l'un et l'autre cas, le procédé est laborieux et ne permet pas des mesures nombreuses ; il oblige, de plus, à opérer sur d'assez grandes quantités de liquide. On n'est d'ailleurs pas sûr, si l'on consi-

dère deux souches cultivées dans des conditions plus ou moins différentes, que le rapport du poids sec ou de l'azote au poids frais reste le même.

En résumé, toutes ces méthodes, que nous venons d'examiner sommairement, ne sont pas suffisamment exemptes de causes d'erreur pour compenser les efforts que nécessite leur mise en œuvre.

La fermentation lactique nous offre l'avantage de se prêter à des mesures très simples et rapides de l'activité globale, dans lesquelles on évaluera, à vrai dire sans les séparer, le pouvoir fermentatif et le processus de multiplication.

Si l'on pouvait admettre que le pouvoir fermentatif des Bacilles intoxiqués et témoins reste toujours le même, les résultats obtenus, en dosant l'acidité développée par les cultures, nous renseigneraient avec fidélité sur la multiplication microbienne. Cependant, il n'en est pas toujours ainsi. Par exemple, dans les recherches d'Effront (38-43) sur l'action exercée par l'acide fluorhydrique et les fluorures sur les levures, il a été montré qu'il y a un optimum de concentration du poison pour la végétation des microorganismes, puis un autre optimum, correspondant à une concentration plus forte, pour la puissance fermentative ; et c'est quand la végétation est presque nulle que le pouvoir fermentatif est le plus grand.

Dans le même ordre d'idées, nous avons pu constater, au cours de l'accoutumance du ferment lactique à des fortes doses de nitrate de thallium ( $TlNO_3$  à 7 p. 1 000) que le pouvoir fermentatif devenait très notablement supérieur à celui du témoin, tandis qu'il y avait une très forte diminution de la multiplication (178). Nous définissons le pouvoir fermentatif par le rapport de l'acide lactique formé au poids sec des microbes.

EXPÉRIENCE. — Pour faire la comparaison de la puissance fermentative des Bacilles lactiques témoins et de ceux qui végètent sur les milieux thalliques auxquels ils sont adaptés, nous avons déterminé, dans chaque cas et aux différentes heures de la fermentation, la quantité d'acide lactique fabriquée et le poids sec de la levure lactique formée, dans des cultures en ballons de 100 à 200 centimètres cubes. Les Bacilles sont séparés à l'aide d'une centrifugeuse, lavés, recentrifugés et desséchés à l'étuve à 60°, puis dans le vide

sulfurique. En faisant à chaque période de la fermentation le pouvoir fermentatif des témoins égal à 100, celui des Bacilles thalliques prend les valeurs suivantes :

| Temps.     | Pouvoir fermentatif en p. 100 du témoin.                 |                                                          |
|------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
|            | Souche accoutumée<br>à 1 p. 1 000 de TINO <sup>3</sup> . | Souche accoutumée<br>à 7 p. 1 000 de TINO <sup>3</sup> . |
| 18 heures. | 90                                                       | »                                                        |
| 24 —       | 89                                                       | 124                                                      |
| 46 —       | »                                                        | 124                                                      |
| 48 —       | 78                                                       | »                                                        |
| 123 —      | »                                                        | 156                                                      |

On voit que, dans les solutions de nitrate de thallium à 1 p. 1 000 qui ne diminuent que peu la multiplication microbienne, il y a une légère diminution du pouvoir fermentatif par rapport aux témoins ; mais, au contraire, avec les microbes végétant dans les solutions thalliques concentrées, le pouvoir fermentatif est très notablement supérieur à celui des témoins ; comme si, en compensation de la forte diminution de la reproduction, l'activité biochimique des microbes était exaltée pour maintenir à un niveau normal le processus de fermentation.

Cependant, dans la plupart des autres cas, d'après les comparaisons sommaires que nous avons toujours eu soin de faire entre l'opacité des cultures et l'activité formée, il faut admettre qu'en général les résultats globaux de l'activité cellulaire que nous déterminons varient parallèlement au croît. Aussi est-ce à juste titre que Ch. Richet (162-164, 168) a insisté, il y a longtemps déjà, sur l'intérêt que présente pour le biologiste le ferment lactique.

Un simple dosage acidimétrique nous renseigne en effet avec une précision relativement grande sur l'activité du microbe, et de ce chef, de vastes séries d'expériences peuvent être menées à bien en un temps relativement court.

Charles Richet a montré qu'une telle méthode peut même permettre, avec quelques modifications appropriées, d'évaluer l'action accélérante ou retardante de doses minuscules de toxiques (155-158, 160) ou de différentes substances sur la cellule microbienne (180), ou encore l'action fugace de faibles variations thermiques (175). En appliquant cette même

méthode, il a constaté avec Lassablière (96, 153) que la lumière diffuse n'influence pas la fermentation lactique, tandis que la phosphorescence du sulfure de calcium provoque, suivant les conditions expérimentales, soit une accélération, soit un ralentissement de la fermentation.

Dans toutes nos expériences, nous dosons l'acidité développée par le ferment en un temps donné. Les chiffres de dosage sont rapportés à 10 centimètres cubes de liquide fermenté. Comme solution de dosage, nous employions une solution de KOH N/50 et comme indicateur coloré la phénolphthaléine ; pour que les dosages soient toujours faits en présence d'une quantité constante d'indicateur coloré, nous introduisions dans la solution potassique une quantité de solution alcoolique de phénolphthaléine à 10 p. 100, correspondant à une goutte par 5 centimètres cubes de solution potassique. Les cultures, d'autre part, recevaient aussi une goutte de phénolphthaléine par tubes de 5 centimètres cubes. Des acidités dosées après fermentation, il faut, bien entendu, retrancher l'acidité initiale du milieu.

Quand il s'agit de doser une grande série de cultures ou que, pour une raison ou pour une autre, le dosage ne peut être fait immédiatement, les cultures sorties de l'étuve doivent être aussitôt portées pendant dix minutes à 100°, afin d'arrêter la fermentation dans tous les tubes en même temps.

Nos expériences consistaient donc dans une comparaison entre les souches intoxiquées et les souches normales, au point de vue de l'acidité qu'elles développaient, toutes conditions égales d'ailleurs. En d'autres termes, nous comparions l'activité globale des cellules microbiennes ayant subi l'influence d'un poison et celle des cellules témoins.

Mais il convenait de s'assurer que les souches témoins constituent bien un terme de comparaison stable.

Aussi, avions-nous, à titre de contrôle, cultivé parallèlement trois souches témoins, dans des conditions différentes de réensemencement, l'une étant réensemencée toutes les 24, une autre toutes les 48 et la troisième enfin, toutes les 72 heures pendant 35 jours. Nous nous sommes servis de ces trois souches pour ensemençer trois séries de tubes, et nous avons ainsi déterminé la marche de la fermentation d'un même milieu sous l'action de chacune de ces trois souches.

Comme le montrent les nombres ci-dessous, les résultats obtenus sont presque complètement concordants. Les acidités étant dosées après 14, 23, 48 et 89 heures de fermentation à 38°, les cultures filles de la souche réensemencée toutes les vingt-quatre heures ont donné au bout de ces temps des acidités qui sont respectivement 0.7, 10.1, 19.1 et 22.9 ; celles qui correspondent à la souche réensemencée toutes les quarante-huit heures ont été : 0.9, 10.4, 18.5 et 21.1 ; enfin celles de la souche réensemencée toutes les soixante-douze heures

ont donné : 2, 9.5, 18.6 et 23.7 ; c'est-à-dire que les courbes de fermentation en fonction du temps sont très voisines les unes des autres pour les trois souches.

### 7° Fermentation en milieu toxique.

Avant de donner la bibliographie et les faits relatifs à l'accoutumance aux poisons, nous exposerons brièvement l'action des toxiques sur les microorganismes en fonction de la dose.

Beaucoup d'auteurs, notamment Meyer (120), Wüthrich (195), Nathan et Schmidt (124), Iwanoff (85), Manoïlow (113) et d'autres ont étudié cette question sur des microorganismes variés : moisissures, bactéries.

En ce qui concerne le ferment lactique, la question a été bien étudiée par Charles Richet (149-152) et par son élève Chassevant (19) qui ont comparé l'action des toxiques minéraux les plus variés.

Nous rappellerons qu'à la suite de ses recherches, Charles Richet, pour expliquer le classement des corps simples par ordre de toxicité, a invoqué les effets d'une accoutumance ancestrale des êtres vivants vis-à-vis des divers éléments répandus dans la nature.

Il a constaté en effet qu'en général, dans un même groupe chimique, la toxicité est d'autant plus forte que l'élément considéré est plus rare dans la nature.

Les travaux de ces auteurs ont donné également, pour un grand nombre de ces poisons, la courbe d'action en fonction de la dose.

Les quatre séries de doses suivantes peuvent être distinguées d'après Richet et Chassevant :

1° Doses indifférentes, ou celles qui sont trop faibles pour influencer soit la multiplication, soit l'activité biochimique ;

2° Doses accélérantes ou stimulantes, supérieures aux précédentes ; elles stimulent plutôt la fonction de reproduction que la fonction biochimique ;

3° Doses antigénétiques plus fortes que les doses accélérantes ; elles entravent la faculté de reproduction en respectant les autres fonctions ;

4° Et enfin doses antibiotiques qui abolissent toutes les fonctions vitales.

Dans la préparation des milieux toxiques qui devaient servir à nos expériences, certains poisons étaient stérilisés avec le milieu; d'autres étaient stérilisés séparément et étaient ajoutés suivant les règles de l'asepsie au milieu déjà stérile. Cette dernière façon de faire est indispensable avec certains poisons dont la toxicité se modifie notablement quand ils sont chauffés en présence de matières organiques comme celles que renferment nos milieux. C'est ce qui se passe notamment avec le sublimé, dont une même dose peut être arrêtante quand ce sel n'est pas soumis à la stérilisation dans le milieu, indifférente quand il est stérilisé dans le milieu à 110° et accélérante quand il est stérilisé à 120° dans le milieu (178). Par conséquent, le bichlorure de mercure participe dans le milieu, aux températures de stérilisation, à des réactions dont le résultat est très vraisemblablement une réduction, et qui modifient profondément sa toxicité. Nous avons recherché s'il fallait, dans cette action, attribuer un rôle au lactose, ou au contraire à quelque autre constituant du milieu. Pour cela, nous avons stérilisé séparément, dans des tubes à essais, la solution de lactose à 20 p. 1 000 et la solution de peptones de caséine acidifiée par l'acide lactique.

Le sublimé a été ajouté avant stérilisation, tantôt au lactose, tantôt à la solution acide de peptones. On réunit ensuite deux par deux avec toutes les précautions d'asepsie les tubes de peptones et les tubes d'eau lactosée, avant de procéder à l'ensemencement. Il nous a paru, en opérant ainsi, que la toxicité du sublimé était à peu près également diminuée et dans de très fortes proportions, que le sel soit stérilisé en présence du lactose seul ou en présence de la solution de peptones additionnée d'acide lactique. Cette diminution est toujours moindre cependant que quand le sel est chauffé en présence, simultanément, du lactose et des peptones. Nous avons recherché enfin si l'acide lactique intervenait lui aussi dans les phénomènes en question. Mais nous avons constaté que, chauffé en présence du liquide mercurique, il ne diminue pas de façon appréciable sa toxicité (178).

Avec les divers poisons que nous avons utilisés, nous prenions comme dose toxique une dose qui diminuait notablement le croît du ferment par rapport à son croît sur milieu témoin (dose antigénétique). Une souche ainsi intoxiquée est mise, au bout d'un temps plus ou moins long suivant les expériences, sur des milieux contenant une quantité de toxique supérieure à celle du milieu de culture, en même temps qu'une souche témoin. C'est, en effet, avec les doses de toxicité limite, c'est-à-dire avec les doses les plus fortes, qui sont encore compatibles avec un léger croît, qu'on peut le mieux apprécier les modifications physiologiques que présente la souche intoxiquée par rapport à la souche témoin.

Pour nos expériences, nous avons choisi à dessein des poisons divers, dans des familles chimiques assez éloignées les unes des autres.

---

## CHAPITRE II

### ACCOUTUMANCE DES MICROORGANISMES AUX TOXIQUES

#### 1° Historique.

L'accoutumance a, depuis l'antiquité, attiré l'attention des savants. Nous ne donnerons ici qu'une énumération brève des travaux sur la résistance acquise vis-à-vis des poisons. Les recherches sur les organismes monocellulaires, ainsi que sur les êtres simples comme les Thallophytes, feront l'objet de ce court aperçu bibliographique.

Les résultats des nombreux auteurs ont été souvent contradictoires, car les recherches ont porté évidemment sur des espèces très différentes.

*La rapidité du développement, le processus de multiplication, parfois la puissance fermentative ont été les tests de l'adaptation.*

*Chaque organisme, aussi simple qu'il soit, répond d'une façon qui lui est propre à l'intoxication par tel ou tel poison. Et même vis-à-vis d'un même poison, la réaction cellulaire peut être différente suivant l'activité des fonctions vitales, suivant l'âge de la cellule, suivant la dose du poison, et il est probable que le nombre des variables agissant sur les êtres et déterminant comme résultante un changement de l'organisme est très grand. Quelques-uns des facteurs ont été étudiés par nous et seront exposés dans la suite.*

Cesont les Levures qui ont servi en premier lieu à une étude précise de l'accoutumance chez les êtres monocellulaires (1).

Après quelques premières observations relatives à divers microorganismes, Kossiakoff (94), Haffkine (76), Effront, puis

(1) Pour tout ce qui concerne la biologie des levures et leurs variations et la bibliographie se rapportant à ces questions, on consultera utilement Guilhaumon (74).

Laurent (97), Rothenbach (184), Jacquemin (86), Dubourg (29), et d'autres ont apporté des faits d'un très grand intérêt.

Les principales recherches sont celles d'Effront (38-43), qui ont surtout porté sur l'acide fluorhydrique et les fluorures, et elles ont montré que les Levures s'accoutumaient facilement à ces substances, ainsi que les bactéries acétique, butyrique et lactique.

C'est cette dernière bactérie qui a fait l'objet d'une longue série de recherches de la part de Charles Richet (121, 162-164, 167, 168), qui a trouvé des accoutumances remarquables avec de nombreux poisons.

Pulst (141) accoutuma des moisissures, *Penicillium glaucum* notamment, aux sels minéraux, entre autres au sulfate de cuivre ; Curt Meissner (116) étudia le *Penicillium* et aussi un autre Champignon, l'*Aspergillus*.

Les expériences d'Ehrlich (46-50) et d'autres auteurs sur l'accoutumance des Trypanosomes aux poisons minéraux et organiques sont classiques. La propriété acquise par ces races résistantes aux poisons est stable, même après un très grand nombre de passages sur l'animal. Davenport et Neal (25) accoutumèrent au sublimé des Protozoaires ; Neuhaus (125), au sublimé, au sulfate de cuivre et à d'autres poisons.

Cependant, certains auteurs ont cité des cas dans lesquels ils ne pouvaient jamais constater d'accoutumance. Schroeder (187) n'a pas réussi à accoutumer *Aspergillus niger* au cyanure de potassium. Il semble résulter des travaux de C. Meissner (116) que certaines moisissures ne s'accoutument pas à l'alcool amylique.

Comme nous le montrerons plus loin, il y a effectivement des cas où les essais d'accoutumance sont voués à l'insuccès. Les poisons avec lesquels s'observent ces échecs sont sans doute différents suivant les espèces microbiennes. Ainsi, nous avons, dans nos recherches personnelles, trouvé une sensibilisation du ferment lactique avec des doses convenables de sulfate de cuivre. Pulst a, au contraire, obtenu avec ce même poison une accoutumance chez *Penicillium glaucum*. Davenport et Neal ont accoutumé des Protozoaires au bichlorure de mercure ; Neuhaus, des Protozoaires à ce

même poison et au sulfate de cuivre, tandis que, dans tous nos essais, le sublimé et le sulfate de cuivre ont été des poisons sensibilisants. Les sels de cuivre ont aussi donné des accoutumances avec les levures dans les travaux de Jacquemin.

Des recherches qui ont montré l'accoutumance des microorganismes aux toxiques, il n'est pas inutile de rapprocher celles qui ont trait à l'adaptation de ces êtres à certaines conditions anormales de milieu, par exemple aux variations de la pression osmotique et aux changements de température.

En ce qui concerne le premier facteur, nous pouvons citer les travaux de Raulin (143) sur les moisissures, de Richter (181) sur les Algues d'eau douce, de Klebs (91) qui a montré que les Euglènes supportent bien des changements assez amples de la concentration et présentent souvent d'abord des modifications de structure qui disparaissent au bout de quelques jours d'adaptation au nouveau milieu ; cette même question a encore été étudiée par d'autres auteurs dont on trouvera les résultats essentiels dans Pringsheim (140).

## 2° Recherches personnelles.

L'accoutumance du ferment lactique est donc démontrée par les expériences antérieures de Richet et de ses collaborateurs.

Nous nous sommes proposé, dans nos recherches personnelles, d'étudier de nombreux poisons afin de voir la marche de l'accoutumance avec chacun d'eux. Les toxiques choisis étaient actifs à des doses faibles. Nous évaluons, comme

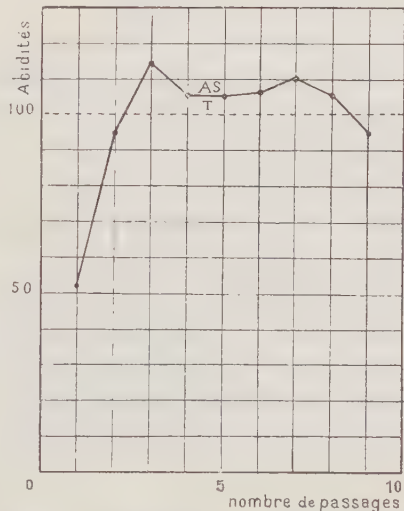


Fig. 3. — Acidité dans les cultures successives d'une souche témoin (---) et d'une souche placée sur milieu arsenical (—).

nous l'avons déjà dit antérieurement, les phénomènes d'accoutumance en comparant les croîts du ferment intoxiqué avec ceux du ferment témoin sur le même milieu toxique.

Suivons sur le tableau ci-dessous la marche de l'*accoutumance à l'arséniate de potasse* en fonction du temps.

EXPÉRIENCE I. — Deux souches sont cultivées parallèlement : une souche témoin sur milieu normal ; une autre sur milieu additionné de 0,05 p. 1 000 de  $K^3AsO^4$ . Les réensemencements se faisaient pour les deux cultures toutes les vingt-quatre heures. La marche de l'accoutumance était suivie pendant neuf passages, le croît du ferment témoin sur milieu normal étant pris égal à 100, et nous servant de terme de comparaison (fig. 3).

| Nombre<br>de passages. | Souche témoin.<br>Acidité réelle. | Souche arsenicale.<br>Acidité réelle. | Acidité en p. 100<br>du témoin. |
|------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| 1                      | 28,4                              | 14,8                                  | 52                              |
| 2                      | 28,2                              | 27                                    | 96                              |
| 3                      | 28,4                              | 32,4                                  | 115                             |
| 4                      | 29,2                              | 31                                    | 106                             |
| 5                      | 30                                | 31,8                                  | 106                             |
| 6                      | 28,8                              | 31                                    | 107                             |
| 7                      | 28                                | 31,2                                  | 111                             |
| 8                      | 29,4                              | 31,4                                  | 105                             |
| 9                      | 28,4                              | 27                                    | 95                              |

Cette expérience et d'autres dont nous ne donnons pas ici le détail montrent donc que *l'accoutumance à l'arséniate de potasse est rapide*.

Nous donnerons cependant encore une expérience qui montre d'une autre façon le phénomène de l'accoutumance.

Dans cette expérience, on a déterminé la courbe de toxicité de  $K^3AsO^4$  d'une part pour un ferment témoin, d'autre part pour un ferment qui a été cultivé pendant six semaines sur milieu à 0,05 p. 1 000 de  $K^3AsO^4$ .

Les deux souches, témoin et arsenicale, ont étéensemencées chacune sur la même série de doses d'arséniate de potasse, et le dosage des cultures a été fait au bout de quarante-huit heures d'étuve :

| Doses<br>p. 1 000. | Acidité développée par |                    |
|--------------------|------------------------|--------------------|
|                    | souche témoin.         | souche arsenicale. |
| 0,05               | 18                     | 25,6               |
| 0,25               | 2                      | 22,4               |
| 0,45               | 0                      | 10                 |
| 0,65               | 0                      | 10                 |
| 0,85               | 0                      | 7,2                |
| 1,05               | 0                      | 6,4                |

Une accoutumance de quelques semaines augmente donc suffisamment la résistance du microbe au toxique pour qu'il puisse supporter des doses qui, initialement, arrêtent complètement sa végétation (fig. 4).

On voit que, vis-à-vis de toutes les doses d'arséniate employées, la résistance du ferment accoutumé est notablement accrue.

Nous avons systématiquement, à maintes reprises, expérimenté avec le *nitrate de thallium* (178), déjà longuement étudié au point de vue de l'accoutumance par Charles Richet (167).

EXPÉRIENCE II.—Le ferment lactique a végété sur un milieu additionné de 1 p. 1 000 de  $\text{TINO}_3$ ; la marche de l'accoutumance a été suivie pendant quarante-trois passages. Cette expérience a été faite en deux périodes : pendant

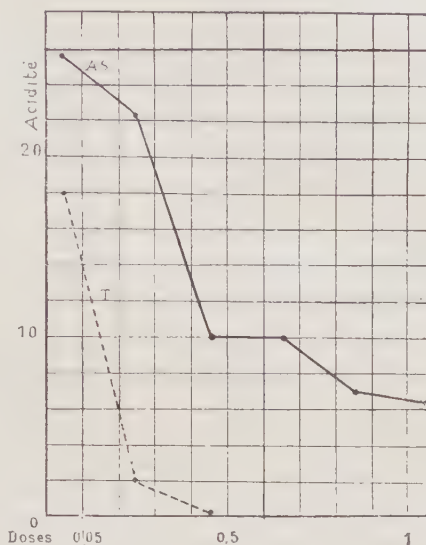


Fig. 4. — Résistances comparées d'une souche témoin et d'une souche accoutumée à l'arsenic vis-à-vis de doses croissantes d'arséniate de potasse.

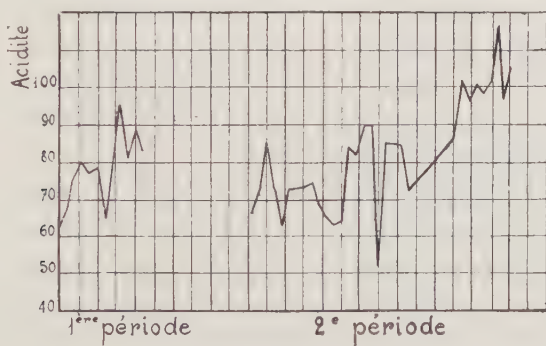


Fig. 5. — Marche de l'accoutumance du ferment lactique à  $\text{TINO}_3$ ; en abscisses les temps. Les acidités des cultures successives sur milieu thallique sont exprimées en p. 100 des acidités d'une fermentation témoin; dans la première période, les réensemencements sont faits toutes les 24 heures; dans la deuxième, toutes les 48 heures.

la première, les réensemencements avaient lieu toutes les vingt-quatre heures; dans la seconde, toutes les quarante-huit heures. Les acidités du ferment

cultivé sur milieu thallique sont données en p. 100 de celles des fermentations témoins. Pendant la première période, correspondant aux douze premiers réensemencements, ces acidités ont été successivement les suivantes : 63, 67, 75, 80, 77, 78, 65, 81, 95, 81, 88, 83. Pendant la seconde période, s'étendant du douzième au quarante-huitième réensemencement, elles ont été de 66, 73, 85, 73, 63, 72, 72, 73, 74, 69, 65, 63, 64, 84, 82, 90, 90, 52, 84, 84, 84, 72, 86, 103, 96, 100, 97, 103, 116, 96, 105. Ce tableau et mieux encore le graphique (fig. 5), montrent la courbe de l'accoutumance en fonction du temps, courbe irrégulière sans doute, mais avec une tendance très nette pour le ferment intoxiqué à égaler l'activité d'une fermentation normale.

Ainsi est bien établie, par ces expériences, le phénomène de l'accoutumance du ferment lactique au nitrate de hallium.

Les sels de cadmium donnent aussi des accoutumances tout à fait remarquables et rapides.

EXPÉRIENCE III. — Ainsi deux souches cultivées en présence de deux doses de sulfate de cadmium, les réensemencements étant faits toutes les quarante-huit heures, montrent par rapport au témoin une augmentation de résistance vis-à-vis du toxique, augmentation qui s'accroît rapidement en fonction du temps d'intoxication. Au bout de deux et quatorze jours, on a comparé l'activité de ces souches intoxiquées, restant sur leurs milieux toxiques, à celles d'une souche témoin placée sur ces mêmes milieux toxiques. Les deux doses toxiques pour la culture et les épreuves étaient 0,025 p. 1 000 et 0,05 p. 1 000. Les dosages étaient faits au bout de vingt-quatre heures.

|                     | Sur $\text{CdSO}_4$ , 0,025 p. 1 000. |                  | Sur $\text{CdSO}_4$ , 0,05 p. 1 000. |                  |
|---------------------|---------------------------------------|------------------|--------------------------------------|------------------|
|                     | Souche témoin.                        | Souche cadmique. | Souche témoin.                       | Souche cadmique. |
| Après 2 jours.....  | 0                                     | 2,35             | 0                                    | 4,6              |
| Après 14 jours..... | 0                                     | 6,7              | 0                                    | 7,9              |

On voit donc dans cette expérience l'accoutumance croître en fonction du temps d'intoxication.

Voici un exemple de l'accoutumance du Bacille lactique au chlorure de manganèse.

EXPÉRIENCE IV. — On compare deux souches, l'une normale, l'autre intoxiquée par  $\text{MnCl}_2$  à 2,5 p. 1 000 pendant six jours. Les nombres ci-dessous sont la moyenne de dosage de quatre cultures.

| Doses de $\text{MnCl}_2$ . | Souche témoin. | Souche intoxiquée. |
|----------------------------|----------------|--------------------|
| 2,5 p. 1 000               | 0,2            | 17,2               |
| 3 —                        | 0,8            | 10,2               |
| 3,5 —                      | 0,4            | 5,0                |
| 4 —                        | 0              | 6,9                |

Avec le *chromate de sodium* et le *fluorure de sodium*, nous avons eu aussi des accoutumances plus ou moins amples.

Les essais ont été faits également avec certaines substances organiques : le *phénol*, l'*éosine*, le *bleu de méthylène*. Ni l'*éosine*, ni le *phénol*, ni la *glycérine* (Cardot et Laugier, 17) n'ont donné de variations appréciables dans la résistance microbienne. Mais le *bleu de méthylène*, par contre, donne avec le ferment lactique des résultats éclatants.

Notre milieu de culture est additionné de *bleu de méthylène* jusqu'à coloration bleu franc. Un ferment lactique normal, ensemencé sur un pareil milieu, pousse très mal, et il n'y a pas de décoloration appréciable du milieu. Mais, si le *Bacille* a été accoutumé au préalable au milieu additionné de *bleu de méthylène*, on voit qu'il peut se multiplier rapidement et, par conséquent aussi, décolorer rapidement ce milieu.

Cette expérience peut servir de démonstration de cours.

En résumé, *presque tous les toxiques que nous venons d'énumérer permettent d'obtenir facilement l'accoutumance, qui se développe avec une plus ou moins grande rapidité et amplitude suivant la nature du poison.*

*Pour que l'accoutumance puisse se produire, il faut :*

1° Une certaine dose de poison; 2° une certaine durée de végétation sur le milieu toxique.

La dose du poison et le temps pendant lequel s'exerce son influence sur la cellule microbienne sont les deux grands facteurs du changement biologique de la cellule.

Il semble que les doses assez faibles pour être sans influence sur le croît, ou les doses accélérantes, ne permettent pas de

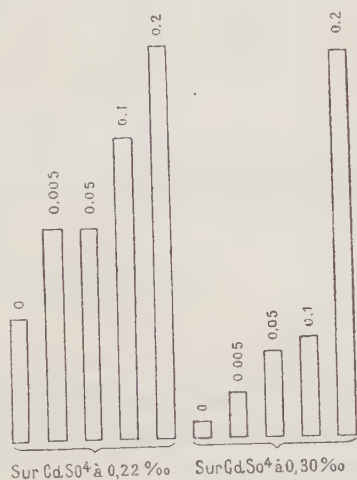


Fig. 6. — Comparaison des augmentations de résistance vis-à-vis du  $\text{CdSO}_4$ , après culture sur diverses doses croissantes du poison. (La hauteur des rectangles est proportionnelle à l'acidité des cultures données par les diverses souches ayant subi 0,005, 0,05, 0,1, 0,2 p. 1000 de  $\text{CdSO}_4$ ; les épreuves sont faites sur les doses 0,22 et 0,30 p. 1000.)

constater la production d'une accoutumance notable. Dans bien des cas, *l'amplitude de l'accoutumance est assez étroitement fonction de la dose* :

EXPÉRIENCE V. — Sur quatre doses de  $\text{CdSO}_4$  sont cultivées des souches lactiques (ces doses de culture sont 0,005 p. 1 000, 0,05 p. 1 000, 0,1 p. 1 000 et 0,2 p. 1 000). Après un séjour de dix jours sur ces milieux, les quatre souches intoxiquées par ces différentes doses sont ensemencées sur milieux cadmiques à plus forte concentration. La souche normale nous sert comme terme de comparaison, et les chiffres ci-dessous sont la moyenne des dosages de cinq tubes (fig. 6).

| Doses de $\text{CdSO}_4$<br>p. 1 000. | Souches intoxiquées par $\text{CdSO}_4$ à |                |               |               | Souche<br>témoin. |
|---------------------------------------|-------------------------------------------|----------------|---------------|---------------|-------------------|
|                                       | 0,005 p. 1 000.                           | 0,05 p. 1 000. | 0,1 p. 1 000. | 0,2 p. 1 000. |                   |
| 0,22                                  | 11,7                                      | 11,7           | 16,7          | 21,9          | 6,8               |
| 0,30                                  | 2,3                                       | 4,6            | 5,4           | 21,3          | 0,9               |

Pour les doses faibles, le phénomène d'accoutumance existe, mais il est peu prononcé par rapport à celui qu'on peut obtenir avec les doses fortes.

### 3° Limite de l'accoutumance.

Plus la culture sur milieu toxique est prolongée, plus la dose limite se déplace ou, en d'autres termes, plus elle devient forte. Nous appelons dose limite la dose la plus forte à laquelle le croît du ferment en expérience est possible. Ainsi, une souche lactique intoxiquée depuis quelques semaines pousse sur une dose de poison infiniment plus forte qu'une souche n'ayant que quelques jours de culture.

*Mais la dose limite ne se déplace pas indéfiniment.*

Au bout d'un temps plus ou moins long suivant les poisons et, sans doute suivant les microorganismes, le déplacement cesse. Et même avec un poison susceptible de donner dans certains cas des sensibilisations ( $\text{TiNO}_3$ ), nous avons pu observer, après une très belle accoutumance, et un très ample déplacement de la dose limite, non seulement un arrêt, mais même une diminution de la capacité de résistance vis-à-vis des doses limites. Le tableau et le graphique ci-dessous (fig. 7)

montrent le déplacement très prononcé de la dose limite d'un ferment lactique ayant subi pendant huit semaines une dose de 1 p. 1000 de  $\text{TINO}^3$ .

Le démonstration est éclatante : le ferment témoin n'a pas

poussé à la concentration de 2 p. 1 000, tandis que le ferment accoutumé à 1 p. 1000 de  $\text{TINO}^3$  pousse même sur des milieux à 8 p. 1 000. Enfin, quand ce même ferment cultivé pendant huit semaines sur  $\text{TINO}^3$  à 1 p. 1 000 est cultivé ensuite pendant huit passages successifs sur des doses supérieures, comprises entre 1 et 8,5 p. 1 000, on constate encore un nouvel accroissement de la résistance ; ces faits sont rendus manifestes (fig. 7) par

comparaison des courbes 1 (témoin), 2 (souche ayant subi huit semaines  $\text{TINO}^3$  à 1 p. 1000) et 3 (souche ayant subi huit semaines  $\text{TINO}^3$  à 1 p. 1000 et ensuite des concentrations plus élevées).

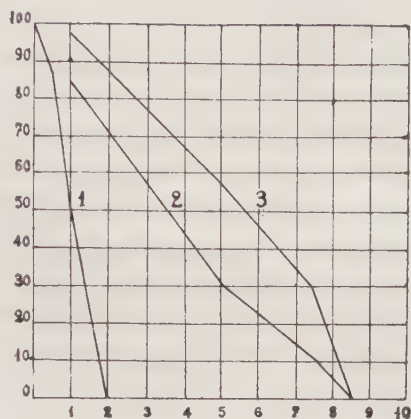


Fig. 7. — Courbes de toxicité du  $\text{TINO}^3$  pour un ferment témoin (1), pour un ferment ayant subi 8 semaines  $\text{TINO}^3$  à 1 p. 1 000 (2) et pour un ferment ayant subi une intoxication plus forte et plus durable (3). (En abscisses les doses ; en ordonnées les acidités.)

| Doses de $\text{TINO}^3$<br>p. 1 000. | S. témoin. | S. intoxiquée<br>par $\text{TINO}^3$<br>à 1 p. 1 000. | S. intoxiquée par<br>$\text{TINO}^3$ à 1 p. 1 000,<br>puis par des doses<br>plus fortes. |
|---------------------------------------|------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0,5                                   | 87         | »                                                     | »                                                                                        |
| 1                                     | 50         | 84                                                    | 97                                                                                       |
| 2                                     | 0          | »                                                     | »                                                                                        |
| 5                                     | 0          | 31                                                    | 57                                                                                       |
| 5,5                                   | 0          | 11                                                    | 30                                                                                       |
| 8,5                                   | 0          | 0                                                     | 0                                                                                        |

Toutefois, ce déplacement de la dose limite ne se poursuit pas indéfiniment. Il arrive qu'en prolongeant beaucoup la culture sur le milieu toxique on peut observer au contraire une

diminution de la résistance qui avait d'abord été si notablement accrue. Ainsi, au bout de quatorze mois de culture sur TINO<sup>3</sup> à 1 p. 1 000, la souche dont il a été question plus haut, a été comparée à une autre qui ne subissait que depuis six semaines l'action de cette même dose de thallium. Ensemencées toutes deux comparativement sur des milieux renfermant du nitrate de thallium à 2, à 4 et à 6 p. 1 000, les croûts ont été sur ces milieux respectivement de 12.8, 0 et 0 pour la souche de quatorze mois, et de 19.4, 12.6 et 0.2 pour la souche de six semaines.

Quoi qu'il en soit de ces fluctuations de la résistance lorsque l'intoxication est prolongée pendant très longtemps, le fait essentiel à retenir ici, c'est que, néanmoins, il y a toujours au cours de l'accoutumance élévation notable de la concentration limite, c'est-à-dire de la concentration du toxique encore compatible avec un léger croît. En d'autres termes, il y a *élévation de la dose antigénétique*.

On pouvait se demander si, chez le ferment accoutumé, la résistance était accrue aussi vis-à-vis des doses antibiotiques. Pour répondre à cette question, nous avons fait plusieurs séries d'expériences dont le protocole est essentiellement le suivant.

Des cultures de 2 centimètres cubes, en pleine activité, les unes d'une souche témoin, les autres d'une souche cultivée depuis un an sur milieu à 1 p. 1 000 de TINO<sup>3</sup> sont versées aseptiquement dans d'identiques volumes de milieu stérile, renfermant de fortes doses de nitrate de thallium, en sorte que les doses de sel toxique après le mélange soient de 12.5, 25 et 50 p. 1 000. Bien que ces mélanges soient maintenus à 38°, il va sans dire que le développement microbien se trouve complètement arrêté. Mais les cellules ne sont pas immédiatement tuées, comme il est facile de s'en assurer en réensemencant, à partir de ces différents mélanges, des tubes de milieu normal si l'on opère avec la souche témoin, des tubes de milieu à 1 p. 1 000 de TINO<sup>3</sup> si l'on opère avec la souche adaptée à ce milieu. D'autre part, on a mélangé aussi chacune des cultures, témoin et thallique, avec des masses de milieu stérile non thallique ; ces mélanges qui servent aussi à faire des réensemencements constituant pour chacune des deux séries de cultures filles, des témoins, c'est-à-dire des germes n'ayant pas subi l'action des doses antibiotiques. Voici les résultats d'une expérience dans laquelle les ensemencements à partir des différents mélanges ont été faits au bout de trois heures de contact avec le sel toxique, puis au bout de vingt-quatre heures. Les cultures filles sont toujours dosées après vingt-quatre heures de fermentation à 38°. A côté des acidités réelles trouvées,

# VARIATIONS BIOLOGIQUES DU BACILLE LACTIQUE 101

nous donnons entre parenthèses les acidités en p. 100 de celle des témoins, c'est-à-dire des microbes qui n'ont pas subi l'action des doses antibiotiques. Chaque nombre représente la moyenne du dosage de trois cultures.

| Dose de TINO <sup>3</sup><br>p. 1 000. | Souche témoin. | Souche thallique. |
|----------------------------------------|----------------|-------------------|
| Après 3 heures de contact :            |                |                   |
| 0                                      | 20,1 (100)     | 21,4 (100)        |
| 12,5                                   | 19,5 (97)      | 19,3 (91)         |
| 25                                     | 17,9 (90)      | 19,7 (92)         |
| 50                                     | 16,9 (84)      | 18,6 (87)         |
| Après 24 heures de contact :           |                |                   |
| 0                                      | 20,2 (100)     | 22,7 (100)        |
| 12,5                                   | 18,5 (92)      | 19,4 (86)         |
| 25                                     | 7,9 (39)       | 14,6 (64)         |
| 50                                     | 0,4 (2)        | 1,3 (6)           |

Il résulte nettement de ces expériences que la diminution de la vitalité en fonction de la dose de nitrate de thallium et en fonction de la durée de l'intoxication a lieu de façon sensiblement identique pour le ferment accoutumé et pour le ferment non accoutumé.

Dans une autre série d'expériences, on a opéré seulement avec une dose de TINO<sup>3</sup> (25 p. 1 000), mais on a fait varier la température à laquelle se produit l'action toxique, une série de mélanges étant placée à 38°, une autre série à 6°. Les essais de la vitalité des mélanges, c'est-à-dire l'ensemencement des cultures filles, ont été faits après une heure, vingt-quatre heures et quarante-huit heures de contact avec le toxique.

| Durée du contact. | Contact à 6°.          |                    | Contact à 38°.         |                    |
|-------------------|------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|
|                   | Souche non accoutumée. | Souche accoutumée. | Souche non accoutumée. | Souche accoutumée. |
| 1 heure .....     | 14,8                   | 16,3               | 18,1                   | 18,5               |
| 24 heures .....   | 13,5                   | 14                 | 7,4                    | 9,4                |
| 48 heures .....   | 13,3                   | 13,7               | 0                      | 0                  |

Que l'intoxication se produise lentement, comme cela a lieu à basse température, ou rapidement, comme c'est le cas à 38°, on voit que les deux souches ne se comportent pas de façon essentiellement différente, et l'on peut conclure de l'ensemble de ces expériences que, *dans l'accoutumance, la forte augmentation de la résistance constatée dans le cas des*

*doses antigénétiques ne se retrouve pas pour les doses antibiotiques.*

Une conclusion analogue a déjà été formulée par Cardot et Laugier (15) en ce qui concerne la résistance d'un ferment accoutumé à KCl, vis-à-vis des très fortes concentrations de ce sel.

---

## CHAPITRE III

### DIMINUTION DE LA RÉSISTANCE VIS-A-VIS DU TOXIQUE

En approfondissant l'étude des nombreux poisons et des multiples facteurs qui pourraient influencer la marche de l'accoutumance, nous avons constaté un phénomène inattendu, contraire, peut-être seulement en apparence, de l'accoutumance : à savoir une sensibilisation du ferment ; c'est-à-dire que la souche intoxiquée pousse moins rapidement que la souche normale, lorsque toutes deux sontensemencées comparativement sur un même milieu toxique. Cette sensibilisation a été vue :

1<sup>o</sup> Avec certains poisons dans tous les cas ;

2<sup>o</sup> Avec d'autres poisons dans certaines conditions seulement.

Nous exposerons nos recherches personnelles, n'ayant point ici d'historique à faire.

Nous signalerons simplement que Trambusti (190) rapporte que, parmi les Bactéries qu'il a tenté d'accoutumer au bichlorure de mercure, il s'en est trouvé de particulièrement sensibles pour lesquelles cet essai a échoué. De même, d'après Curt Meissner (116), il y a augmentation de la sensibilité chez *Aspergillus niger*, quand il subit l'action de l'alcool amylique.

a. Expériences avec le *bichlorure de mercure* :

Une souche lactique normale est ensemencée sur un milieu additionné de différentes doses de bichlorure de mercure. Comme toujours, une souche lactique témoin est ensemencée parallèlement sur milieu témoin. L'expérience a été répétée de nombreuses fois avec plusieurs doses de toxique, et *jamais nous n'avons pu obtenir trace d'accoutumance durable*. Il est arrivé souvent que, après de plus ou moins nombreux réensemencements, la souche intoxiquée par  $\text{HgCl}_2$  périssait

sur le milieu toxique (178). Cependant ce fait n'est pas constant. Avec d'autres milieux de culture, le dépérissement du ferment intoxiqué par le bichlorure de mercure ne va pas jusqu'à la mort ; mais *il y a toujours une sensibilisation prononcée vis-à-vis du toxique.*

Dans les deux cas, les résultats ont été les mêmes pour ce qui concerne la mort ou la sensibilisation du ferment à plus ou moins brève échéance. Les réensemencements ont été faits toutes les vingt-quatre ou toutes les quarante-huit heures ; le ferment témoin est réensemencé sur milieu témoin (l'acidité développée dans ce cas est supposée égale à 100) et le ferment intoxiqué sur milieu toxique (l'acidité développée par ce dernier est rapportée au croît du témoin).

Les expériences les plus typiques sont résumées dans le tableau ci-dessous. Les nombres exprimant les acidités sont la moyenne des dosages de cinq tubes.

Voir aussi la figure 8 qui résume quelques expériences analogues.

| N° des passages. | Doses de $\text{HgCl}_2$ par litre. |         |         |         |         |           |
|------------------|-------------------------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|
|                  | 0gr,0085.                           | 0,0085. | 0,0038. | 0,0038. | 0gr,004 | 0gr,0057. |
| 1                | 42                                  | 69      | 96      | 100     | 129     | 150       |
| 2                | 0                                   | 67      | 58      | 95      | 115     | 106       |
| 3                | »                                   | 6       | 101     | 70      | 117     | »         |
| 4                | »                                   | 0       | 92      | 0       | 111     | 103       |
| 5                | »                                   | »       | 0       | »       | 96      | 24        |
| 6                | »                                   | »       | »       | »       | 86      | 29        |
| 7                | »                                   | »       | »       | »       | 0       | 0         |

Remarquons que, dans ces expériences, faites avec divers milieux où parfois le sublimé était ajouté avant la stérilisation, il n'y a pas un rapport net entre la dose de poison et l'action qu'elle exerce dès le début sur le développement du ferment. Nous avons signalé ailleurs les inconvénients qu'il y a à ajouter  $\text{HgCl}_2$  avant la stérilisation. Toutefois, pour chacune de ces expériences, les conditions de milieu sont restées parfaitement constantes, et toutes montrent bien la graduelle sensibilisation et le dépérissement du microbe par l'action prolongée de ces faibles doses, qui pouvaient être d'abord accélérantes. On pouvait se demander si cette sensibilisation n'était pas la traduction d'une diminution pure et simple de la vitalité de la souche soumise à l'action toxique. S'il en était ainsi, on devait toujours la retrouver, quel que soit le milieu utilisé, toxique ou non toxique. c'est-à-dire que

la souche soumise à l'action du poison devait ensuite, dans tous les cas, présenter un croît inférieur à celui d'une souche témoin. Il n'en est rien : il y a au contraire *une certaine spécificité dans cette sensibilisation*.

Ainsi, l'expérience suivante prouve qu'une souche sensi-

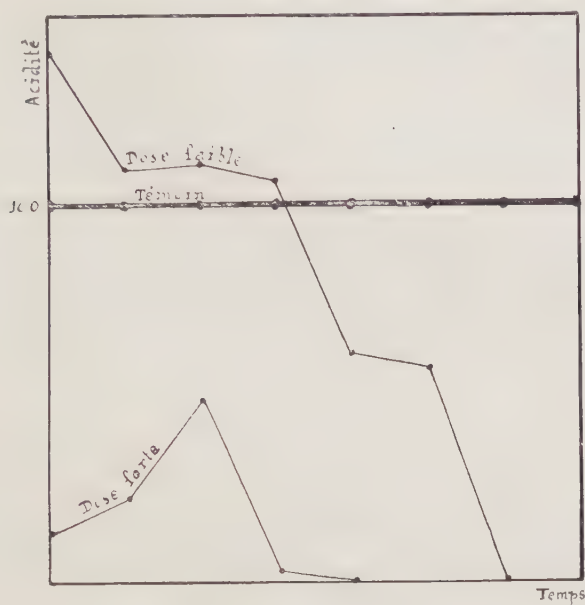


Fig. 8. — Dépérissement progressif des souches cultivées en présence de doses fortes ou faibles de  $\text{HgCl}_2$ . La figure 8 résume des expériences faites soit avec des doses de  $\text{HgCl}_2$  d'emblée retardantes, soit avec des doses accélérantes. Les résultats sont essentiellement les mêmes que plus haut.

bilisée pousse aussi bien qu'une souche témoin, dès qu'elle est remise sur milieu témoin.

Cette expérience a été de très courte durée. Au bout de vingt-quatre heures de culture sur milieu additionné de 0,0028 p. 1 000 de  $\text{HgCl}_2$ , une souche lactique a été ensemencée, comparativement avec une souche témoin, sur milieu témoin d'une part, sur milieu à 0,0028 p. 1 000 de  $\text{HgCl}_2$  d'autre part. Les moyennes des acidités développées dans les différents lots sont les suivantes :

|                    | Sur milieu témoin. |                | Sur milieu mercurique. |                |
|--------------------|--------------------|----------------|------------------------|----------------|
|                    | S. témoin.         | S. mercurique. | S. témoin.             | S. mercurique. |
| 24 h. d'étuve..... | 9,3                | 9,5            | »                      | »              |
| 48 h. d'étuve..... | 16,4               | 16,4           | 9,3                    | 7,4            |

Dans les pages qui suivront (chap. IV et V), nous donnerons d'autres beaux exemples de sensibilisation au mercure et à d'autres toxiques, et ces nouveaux exemples nous montreront aussi que *la sensibilisation à un poison n'entraîne pas forcément la sensibilisation vis-à-vis des autres substances toxiques*.

*b. Expériences avec le sulfate de cuivre :*

Avec le sulfate de cuivre, nous n'avons jamais pu obtenir d'accoutumance tant soit peu marquée que dans des cas exceptionnels. La plupart du temps, la sensibilisation est la règle.

Comme dans le cas de  $\text{HgCl}_2$ , les expériences ont été faites aussi avec le sel cuivrique, soit stérilisé avec le milieu, soit stérilisé séparément pour être ajouté après aseptiquement au milieu stérile. Voici quelques exemples d'une sensibilisation à  $\text{CuSO}_4$ .

EXPÉRIENCE I. — Souche lactique normaleensemencée d'une part sur milieu témoin, d'autre part sur milieu contenant 0,006 p. 1 000 de  $\text{CuSO}_4$ . Au bout de onze jours de culture, ensemencement de ces deux souches, normale et cuivrique, sur milieu à  $\text{CuSO}_4$  à 0,0075 p. 1 000 ; au bout de quarante-huit heures d'étuve, croît de la souche témoin : 17, 8 ; croît de la souche cuivrique : 15,2. Par conséquent, le croît de la souche intoxiquée est égal à 85 p. 100 du croît du témoin sur un même milieu cuivrique.

EXPÉRIENCE II. — Souche lactique ensemencée sur un milieu à  $\text{CuSO}_4$  à 0,0075 p. 1 000 parallèlement à une souche normale sur milieu normal. Après dix jours de cultures, ensemencement comparatif de ces deux souches sur milieu à 0,05 p. 1 000 de  $\text{CuSO}_4$ . Après quarante-deux heures d'étuve, les acidités développées sont les suivantes : souche témoin 4, souche cuivrique 1,4, c'est-à-dire 35 p. 100 du témoin.

*c. Expériences avec le nitrate de thallium :*

Voici un exemple de sensibilisation avec le nitrate de thallium, poison qui est le plus souvent accoutumant (170).

Nous avons cultivé pendant six semaines, parallèlement à une souche normale, sur milieu témoin, une autre souche sur un milieu additionné d'une très faible quantité de nitrate de thallium (0,01 p. 1 000). C'était une dose indifférente en apparence pour le croît du bacille.

Au bout de ce temps, nous ensemencâmes comparativement le bacille intoxiqué par les traces de thallium, ainsi que le ferment témoin, sur un milieu thallique ayant une concentration de 2 p. 1 000. Les chiffres ci-dessous expriment la moyenne de dosages de quatre cultures.

La souche témoin a donné sur le milieu thallique une acidité de 29,0, tandis que dans le même temps la souche intoxiquée ne donnait que 10.

Dans une autre expérience où les nombres expriment la moyenne des dosages de sept cultures, la souche témoin a donné 29,6 et l'intoxiquée 7,3.

Dans les deux cas, les cultures ont été dosées après séjour de quarante-huit heures à l'étuve.

D'après quelques essais que nous avons faits, le *chlorure de platine* paraît devoir aussi être rangé dans le groupe des poisons sensibilisants.

Ainsi, nous avons vu la *sensibilisation* apparaître soit dans presque tous les cas avec certains poisons, même au bout d'une courte durée d'action, soit avec d'autres poisons plus exceptionnellement, et seulement après une assez longue période de végétation sur le milieu toxique. Mais, en tout cas, nous croyons avoir suffisamment démontré, par les exemples qui précèdent, la réalité de ce phénomène de sensibilisation, qui ne peut se confondre avec une diminution pure et simple de la vitalité du ferment.

#### Rapports entre l'accoutumance et la sensibilisation.

Des expériences exposées plus haut se dégagent les conclusions provisoires suivantes :

1° *Il y a des poisons qui ne paraissent pas produire de variations appréciables dans la résistance du microbe* (glycérine, éosine, phénol) ;

2° *Il y a des poisons qui sensibilisent toujours, souvent après une éphémère phase d'accoutumance* (bichlorure de mercure et sulfate de cuivre) ;

3° *Il y a des poisons avec lesquels l'accoutumance est prépondérante et s'observe dans la plupart des expériences* (nitrate de thallium, arséniate de potasse, sulfate et chlorure de cadmium, chlorures alcalins, chlorure de manganèse, chromate de sodium, bleu de méthylène). Certains de ces poisons, suivant la dose, la durée d'intoxication et l'état physiologique du Bacille peuvent toutefois donner tantôt une accoutumance, tantôt une sensibilisation.

Nous avons cherché à préciser un peu l'influence des divers

facteurs qui peuvent déterminer l'apparition soit de l'accoutumance, soit de la sensibilisation.

Examinons avec l'expérience suivante l'influence qu'exerce la *dose du poison*, le nitrate de thallium par exemple.

EXPÉRIENCE. — Les souches ont végété sur trois doses différentes ; la durée de l'intoxication a été la même pour les trois souches. Au bout de six semaines de séjour sur des milieux additionnés de  $\text{TINO}^3$  à 0,01 p. 1 000, 0,1 p. 1 000 et 1 p. 1 000, les trois souches ainsi intoxiquées furentensemencées sur un milieu thallique à 2 p. 1 000, ainsi qu'une souche normale. Dosages faits après quarante-huit heures de fermentation (moyennes de 4 cultures) : la souche témoin donne une acidité de 29 ; la souche intoxiquée par 1 p. 1 000 donne 28,9, celle intoxiquée par 0,1 p. 1 000 donne 29,2 et enfin celle intoxiquée par 0,01 p. 1 000 donne 10.

On peut donc suivre ici en toute netteté le passage graduel de la sensibilisation à l'accoutumance, suivant la dose qui a agi. La dose 1 p. 1 000 a été accoutumante ; la dose 0,01 p. 1 000 a été sensibilisante ; la dose 0,1 p. 1 000 a été indifférente, en apparence, car le croît de la souche qui a subi cette dose a été égal à celui du ferment témoin.

Étudions un autre facteur qui a paru aussi intervenir nettement dans la production de ces deux états biologiques : accoutumance et sensibilisation, à savoir la *durée de l'intoxication*.

Les graphiques de la figure 8 résument les résultats obtenus dans toute une série d'expériences faites avec différentes doses de bichlorure de mercure. Dans toutes, l'accoutumance, de durée très courte, est suivie par une sensibilisation plus ou moins marquée du ferment lactique (Voir aussi le tableau de la page 104).

*Plus longtemps la souche subit l'influence du mercure, plus elle se sensibilise.*

D'autre part, le nitrate de thallium, qui donne de très belles accoutumances, par exemple avec la dose de 1 p. 1 000, pendant de nombreux mois, finit à la longue par sensibiliser le ferment.

Le troisième facteur à considérer encore, c'est *le degré de l'activité de la souche microbienne au moment où l'on fait agir le toxique*. Nous sommes à même de faire varier l'activité cellulaire par l'intermédiaire de la température.

Le temps nous a manqué pour faire une étude systématique de ce facteur. Nous présenterons seulement ici quelques expériences qui indiquent que les réactions de la cellule en présence d'un toxique semblent très notablement différentes à basse température, lorsque la cellule est en état de vie latente, et à température élevée, c'est-à-dire lorsqu'elle est à l'état de vie active.

Lorsqu'on place à la glacière, en présence d'un poison, le ferment lactique, en d'autres termes lorsqu'il est en état de vie ralentie, deux questions différentes se posent :

1<sup>o</sup> La vitalité, c'est-à-dire son activité lorsqu'il est replacé dans les conditions de vie active, sur milieu témoin, est-elle modifiée?

2<sup>o</sup> L'accoutumance et la sensibilisation se réalisent-elles chez la cellule à l'état de vie ralentie ?

En ce qui concerne la première question, Duthoit (32, 33) a apporté quelques renseignements relatifs à l'action du chlorure de sodium à diverses concentrations sur plusieurs espèces microbiennes.

Cardot et Laugier (14, 15) ont démontré la diminution, passagère d'ailleurs, de la vitalité du ferment lactique placé à la glacière, au contact de fortes concentrations salines, et remis après sur milieu témoin à l'étuve. Il résulte de leurs expériences où on faisait agir le sel tantôt à 6°, tantôt à 15°, tantôt à 37°, qu'une même dose de sel diminue d'autant plus la vitalité que la température est plus élevée.

Par nos recherches, nous avons pu démontrer qu'une souche microbienne, même en état de vie ralentie, réagit vis-à-vis du poison par une légère phase d'accoutumance, qui est suivie d'ailleurs par une sensibilisation de la souche.

*Le ferment lactique se défend contre le poison, mais il se défend mal : une dose d'un toxique accoutumant qu'il supporterait indéfiniment à l'étuve à l'état de vie active finit par le tuer à la glacière, lorsqu'il est à l'état de vie latente.*

Les expériences ont été conduites comme suit. On prélève deux quantités égales d'un milieu en pleine fermentation ; l'une d'elles est diluée de son volume de milieu de culture stérile (souche témoin), l'autre est diluée aussi de son volume

d'un milieu stérile, mais additionné d'un sel toxique (souche intoxiquée). Ces deux mélanges sont mis à la glacière et servent de souches pour réensemencer des tubes de milieu renfermant le poison. En d'autres termes, *nous comparerons la rapidité du développement sur des milieux toxiques d'un ferment témoin conservé à la glacière et du ferment conservé en présence du poison à la glacière, lorsqu'ils sont replacés dans les conditions de pleine activité.* Cette comparaison sera faite au bout par exemple de 1, 3, 7 et 26 jours de séjour à la glacière.

Si le toxique n'exerçait aucune action sur le ferment à l'état de vie ralentie, on devrait s'attendre à ce que les cultures filles issues des deux souches précédentes aient toujours le même croît. Les choses se passent tout autrement. On constate, en fonction de la durée d'action du poison sur le ferment à l'état de vie ralentie, une variation systématique dans le croît des cultures filles issues de la souche intoxiquée, par rapport au croît des cultures issues de la souche non intoxiquée. Dans les expériences que nous rapportons ici, nous avons choisi deux sels minéraux, chimiquement très dissemblables et actifs à des doses très différentes.

EXPÉRIENCE I. — Dans une première expérience, la souche témoin et la souche intoxiquée à la glacière par le sulfate de cadmium à 0,1 p. 1 000 ont étéensemencées après 1, 3, 7 et 26 jours de glacière sur milieu renfermant 0,1 p. 1 000 de sulfate de cadmium. L'acidité des cultures filles est dosée après séjour de quarante-huit heures à 38°; l'acidité des cultures filles provenant de la souche témoin étant prise égale à 100, celle des cultures issues de la souche intoxiquée au bout de 1, 3, 7 et 26 jours d'intoxication avait les valeurs suivantes : 109, 110, 72 et 0, respectivement. Lorsque la même expérience est faite en prenant pour dose de poison dans les cultures filles 0,2 p. 1 000 de  $\text{CdSO}_4$ , l'acidité au bout des mêmes temps d'intoxication a été de 203, 103, 2 et 0, toujours en p. 100 des témoins.

Dans ce dernier cas, les dosages des cultures filles étaient faits au bout de soixante-douze heures d'étuve.

EXPÉRIENCE II. — Dans une seconde série d'expériences, l'une des deux souches a subi à la glacière l'action du chlorure de sodium, à la concentration de 13 p. 1 000. On a en outre pris ici la précaution de plonger les deux souches dans un mélange réfrigérant dès le début de l'action du chlorure de sodium et pendant une dizaine d'heures, pour suspendre immédiatement et brusquement toute activité microbienne. La souche intoxiquée a étéensemencée en même temps que la souche témoin après 1, 3, 6 et 24 jours d'action à la glacière,

# VARIATIONS BIOLOGIQUES DU BACILLE LACTIQUE 111

soit sur des milieux à 13 p. 1 000 de NaCl, soit sur des milieux à 26 p. 1 000. Le dosage des cultures filles donne les résultats suivants :

| Durée du séjour<br>à la glacière. | Acidité des cultures filles provenant de la<br>souche intoxiquée (en p. 100 des témoins). |                                            |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
|                                   | Sur NaCl à 13 p. 1 000<br>(48 h. d'étuve).                                                | Sur NaCl à 26 p. 1 000<br>(72 h. d'étuve). |
| 1 jour.                           | 98                                                                                        | 105                                        |
| 3 jours.                          | 118                                                                                       | 120                                        |
| 6 —                               | 97                                                                                        | »                                          |
| 24 —                              | 0                                                                                         | 0                                          |

Dans ces expériences nous montrons donc qu'il y a sous l'action du toxique à basse température (certainement toujours inférieure à 6°) des modifications dans la biologie de la cellule. Ces modifications sont les suivantes :

1° *Une augmentation du pouvoir de résistance de la souche intoxiquée lorsqu'elle est replacée dans des conditions de vie active. Il semble donc qu'il peut se produire, sans qu'il y ait multiplication appréciable des germes, un changement des propriétés cellulaires. Cet accroissement de résistance est fugace ; il disparaît entre le troisième et le sixième jour dans les expériences qui précèdent et au maximum au bout de quinze jours, comme nous l'ont indiqué d'autres expériences.*

Pourtant il convient de présenter ici une réserve sur la conclusion qui précède. Une sélection des germes les plus résistants au début de l'action toxique peut aussi intervenir peut-être pour provoquer l'augmentation momentanée de la résistance de la souche intoxiquée. A vrai dire, nos expériences n'ont pas été suffisamment complètes sur ce point pour autoriser une conclusion définitive ; nous indiquons le fait expérimental sans l'interpréter encore avec certitude.

2° *Une sensibilisation faisant suite à l'accroissement de résistance et d'où résulte que le ferment ayant subi l'action du poison pendant un long délai pousse moins bien que le ferment témoin. Il arrive même un moment où le ferment intoxiqué ne pousse plus du tout en présence du poison, bien qu'il conserve encore la faculté de végéter sur milieu témoin. Si nous n'avons pas pu, en ce qui concerne le premier point, décider s'il y a sélection pure et simple ou modification des*

propriétés cellulaires dans le sens d'une adaptation, il n'en est pas moins acquis que, par la prolongation de l'action toxique, toutes les cellules finissent par être modifiées dans le sens de la sensibilisation.

Un fait remarquable est donc à souligner : c'est la façon différente dont une même dose de poison agit sur le ferment, selon que celui-ci est à l'état de vie latente ou en pleine activité. Il résulte de nos expériences antérieures qu'*à la température de l'étuve un ferment s'accoutume rapidement à une dose modérée de poison et peut en général la supporter indéfiniment. Au contraire, la même dose agissant sur le ferment à l'état de vie ralentie finit par le sensibiliser.*

En résumé, nos expériences semblent montrer une relation entre l'accoutumance et la sensibilisation. A-t-on affaire à deux états biologiques distincts ou bien est-on en présence d'un seul et unique phénomène qui a une double face?

Nous venons de voir que la nature et la dose du poison, la durée de l'intoxication et l'état physiologique des microorganismes sont des facteurs qui interviennent d'une façon appréciable. Nous pouvons dire que souvent l'accoutumance a été suivie à plus ou moins longue échéance d'anaphylaxie (171). Là où on constate l'accoutumance, on peut s'attendre parfois à une sensibilisation dans certaines conditions. Mais nous n'avons pas constaté l'inverse : l'accoutumance n'a jamais fait suite à la sensibilisation.

On ne peut certes pas tirer encore une conclusion ferme. Ce qui est certain, c'est la corrélation et l'enchevêtrement fréquents des deux phénomènes. Dans une certaine mesure, ou du moins avec certains toxiques, il n'est pas impossible, par un choix convenable des conditions expérimentales, de produire tantôt l'accoutumance, tantôt la sensibilisation.

---

## CHAPITRE IV

### SPÉCIFICITÉ DES VARIATIONS

#### 1<sup>e</sup> Spécificité de l'accoutumance.

Dans les chapitres précédents, nous avons démontré l'accoutumance et la sensibilisation du ferment lactique aux toxiques. Ces deux processus biologiques sont-ils une réaction vis-à-vis de tous les poisons en général ou bien n'avons-nous à faire qu'à une réaction étroite, spécifique vis-à-vis du poison donné, additionné dans le milieu de culture ? Les expériences suivantes, ainsi que les graphiques, expriment le fait indéniable de la spécificité de l'accoutumance.

Un Bacille accoutumé à l'arsenic ne l'est que vis-à-vis de l'arsenic ; un autre, accoutumé au cadmium, ne l'est que vis-à-vis du cadmium ; de même pour le thallium, et ainsi de suite (172).

Voici un exemple d'expérience démontrant la spécificité. Sur un milieu toxique contenant 0,125 p. 1 000 de  $K^3AsO^4$ , on cultive un bacille lactique ; en même temps sur un milieu additionné de  $CdSO^4$  à 0,125 p. 1 000, on cultive une autre souche lactique ; la souche témoin sur milieu normal sert comme terme de comparaison. Au bout de plusieurs semaines de culture, ces trois souches sont ensemencées parallèlement sur des milieux arsenicaux et cadmiques à plus fortes concentrations. Le témoin sur milieu témoin donnant une acidité de 32, prise égale à 100, les autres cultures donnent les résultats suivants, dans une première série d'essais dosés au bout de vingt-deux heures.

|                                 | Souche<br>témoin. | Souche<br>arsenicale. | Souche<br>cadmique. |
|---------------------------------|-------------------|-----------------------|---------------------|
| Sur $K^3AsO^4$ à 0,25 p. 1 000. | 0                 | 19,2 = 60 p. 100      | 0                   |
| — à 0,50 —                      | 0                 | 9,8 = 31 —            | 0                   |
| — à 1 p. 1 000.                 | 0                 | 4,4 = 14 —            | 0                   |
| Sur $CdSO^4$ à 0,25 p. 1 000.   | 0                 | 0                     | 23 = 87 p. 100      |

Une seconde série d'essais a été dosée au bout de quarante-six heures ; en ce temps, l'acidité développée par un ferment témoin sur milieu témoin est de 55, acidité que nous prendrons encore égale à 100. Alors, sur un milieu contenant

$\text{CdSO}_4$  à 0,50 p. 1 000, la souche témoin donne 1,4, soit 2,5 p. 100 de la fermentation témoin ; la souche arsenicale donne 0 et la souche cadmique seule pousse bien et donne 24,8, soit 45 p. 100 d'une fermentation témoin.

Cette expérience est suffisamment démonstrative pour prouver la spécificité de l'accoutumance, soit avec le sulfate de cadmium, soit avec l'arséniate de potasse.

Les graphiques ci-joints (fig. 9 et 10) illustrent les nom-

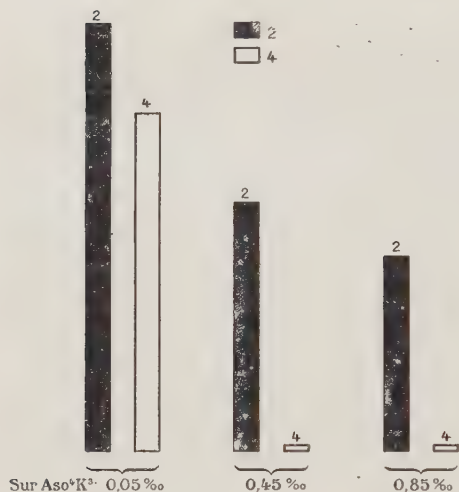


Fig. 9. — Spécificité de l'accoutumance. Comparaison des quantités d'acide formée sur milieux arsenicaux par une souche accoutumée à l'arsenic (2) et par une souche accoutumée au thallium (4).

breuses expériences relatives à la spécificité que nous avons faites et que nous n'exposerons pas toutes dans le détail, car elles sont du même type que la précédente. Le lecteur est prié de se reporter aux graphiques.

Ainsi, la spécificité de l'accoutumance est en première approximation démontrée chez le ferment lactique. Nous allons voir maintenant quelles restrictions il con-

vient d'apporter à cette notion de la spécificité. Sur ce point, il y a déjà un historique.

Ehrlich (50) et ses élèves, accoutumant des Trypanosomes à des médicaments de diverses catégories chimiques et à des sérums thérapeutiques, ont constaté chez certaines races résistantes une spécificité relative. L'acridine ( $\text{C}^{13}\text{H}^2\text{N}$ ) et la pyronine ( $\text{C}^{17}\text{H}^{19}\text{N}^2\text{OCl}$ ) ne contiennent pas traces d'arsenic, et cependant Ehrlich et Röhl (51), employant ces deux corps, obtiennent une résistance à l'atoxyl  $\text{C}^6\text{H}^4$   $\begin{matrix} \text{NH}^2 \\ \diagdown \\ \text{AsO} \diagup \text{OH} \\ \diagup \text{ONa} \end{matrix}$  + 4  $\text{H}^2\text{O}$ .

Lorsque ces auteurs traitent des races accoutumées à

l'atoxyl par l'acide arsénieux, ils déterminent une résistance des Trypanosomes à l'émétique.

Fulmer (59) a observé qu'une Levure acclimatée au fluorure d'ammonium avait une résistance augmentée vis-à-vis du phénol.

Morgenroth et Rosenthal (123) montrent l'action antago-

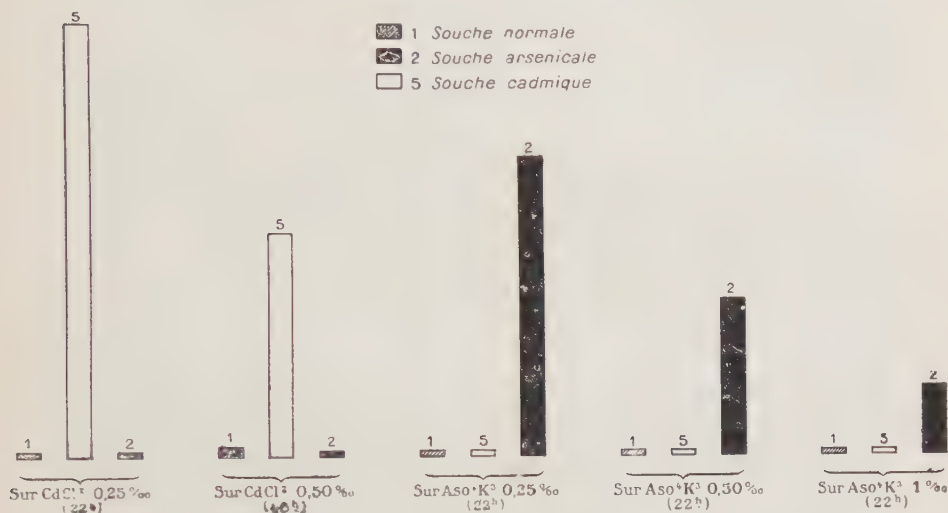


Fig. 10. — Spécificité de l'accoutumance. Comparaison des acidités développées sur milieux cadmiques ou arsenicaux par les trois souches : témoin, accoutumée à CdCl<sub>2</sub> et à ccoutumée à K<sub>3</sub>AsO<sub>4</sub> (hauteurs des rectangles proportionnelles aux acidités).

niste de l'hexatantalate de potassium vis-à-vis de l'émétique ; de plus, ils observent que les Trypanosomes traités par le tantale deviennent résistants à l'émétique. Morgenroth et Halberstædter parviennent à réaliser la résistance à l'émétique en se servant de l'arsacétine.

Ehrlich (50) a aussi montré qu'une race résistante à la para-fuchsine (groupe du triphénylméthane) n'est pas résistante aux arsenicaux, ni aux couleurs de benzidine (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>—NH)<sub>2</sub> et vice-versa ; dans un même groupe chimique (couleurs de benzidine), une race résistante au trypanrot est résistante aussi à l'afridol violet.

Neuschlosz (128), en accoutumant des Paramécies à diverses

substances, a constaté une fois de plus que la spécificité n'est pas étroite. Les individus résistants à l'arsenic l'étaient aussi à l'antimoine, mais ne l'étaient point vis-à-vis des matières colorantes.

Ces faits prouvent une spécificité relative. On peut les retrouver également avec le bacille lactique. Ainsi nous avons constaté qu'un ferment accoutumé au nitrate de thallium l'était aussi parfaitement vis-à-vis du sulfate de thallium.

Les recherches récentes de Cardot et Laugier (17) ont établi une comparaison à ce sujet entre les Levures et le ferment lactique. Ces auteurs ont cultivé pendant deux ans une souche lactique sur un milieu contenant une forte dose de KCl (34<sup>gr</sup>,2 par litre). Le croît de ce ferment potassique était devenu presque égal à celui du ferment témoin sur milieu témoin. Si on ensemeence comparativement un ferment normal et ce ferment intoxiqué par le potassium sur un milieu additionné de potassium, on voit toute la différence que présentent ces deux souches : l'intoxiquée très résistante au KCl, la souche témoin par contre poussant à peine. Mais le Bacille potassique est aussi plus résistant que le témoin vis-à-vis d'autres sels, comme NaCl,  $MgCl^2$ , même vis-à-vis de  $MgSO^4$ , lorsque ces électrolytes sont ajoutés au milieu. Sur milieux glycinés ou saccharosés concentrés, le ferment potassique ne pousse guère mieux que le ferment témoin.

Ce n'est donc pas simplement une adaptation à la pression osmotique ; il y a une spécificité de l'accoutumance, mais cette spécificité n'est pas étroite, car l'accoutumance existe pour le sel de potassium, ainsi que pour les électrolytes voisins. Elle fait défaut pour les non-électrolytes.

De même un ferment lactique cultivé sur NaCl est devenu aussi plus résistant pour KCl, mais non pour la glycérine. Remarquons d'ailleurs qu'une souche lactique cultivée sur milieu glyciné ne présente aucune accoutumance appréciable à la glycérine.

Tout autrement se comporte la Levure. Cardot et Laugier

ont en effet cultivé parallèlement sur milieu additionné de KCl, ou de NaCl, ou de glycérine, une Levure, qu'ils comparaient à une souche normale. La Levure s'est très bien accoutumée au chlorure de sodium et au chlorure de potassium, ainsi qu'à la glycérine. Cultivée sur milieu additionné de KCl, elle poussait beaucoup mieux sur milieu potassique qu'une Levure témoin sur ce même milieu, mais elle poussait aussi mieux que la Levure témoin sur le milieu additionné de glycérine.

Il y avait, avant tout, adaptation à la concentration molaire.

Voici donc deux microorganismes présentant de grands écarts dans le phénomène de l'accoutumance et de sa spécificité.

*La spécificité vis-à-vis de beaucoup de poisons existe lorsqu'on opère avec le ferment lactique. Elle est certaine; elle est indéniable. Il est vraisemblable que, partout où on les rechercherait, on retrouverait de tels phénomènes de spécificité relative; mais ils varient sans doute beaucoup dans leur amplitude, suivant les poisons, les organismes et les fonctionnements considérés.*

## 2° Spécificité de la sensibilisation.

La sensibilisation du ferment lactique est-elle spécifique, ou bien ce phénomène est-il dû à une diminution de la vitalité de la cellule traitée par des traces minimales de poison?

Une souche normale et la souche qui a subi pendant plusieurs semaines l'influence de 0,01 p. 1 000 de  $\text{TiNO}_3$  et qui nous a servi à démontrer le phénomène de sensibilisation sont ensemencées parallèlement : 1° sur leurs milieux respectifs, c'est-à-dire la souche normale sur milieu normal, la souche sensibilisée sur son milieu à 0,01 p. 1 000 de  $\text{TiNO}_3$  ; 2° sur leurs milieux respectifs additionnés d'une même dose de  $\text{K}^3\text{AsO}_4$  (3 p. 1 000).

Au bout de quarante-huit heures d'étuve, les cultures ont été dosées, et chacun des nombres ci-dessous représente la moyenne de neuf dosages.

|                         |                                        | Acidité<br>réelle. | Acidité en p. 100<br>du témoin. |
|-------------------------|----------------------------------------|--------------------|---------------------------------|
| Souche<br>témoin.       | Sur milieu témoin.....                 | 45,3               | 100                             |
|                         | Sur milieu témoin + $K^3AsO^4$         | 11,5               | 25                              |
| Souche<br>sensibilisée. | Sur milieu thallique.                  | 46,2               | 101                             |
|                         | Sur milieu thalli-<br>que + $K^3AsO^4$ | 18,2               | 40                              |

Cette expérience montre clairement que le ferment normal et le ferment traité par les traces de thallium poussent sur leurs milieux respectifs avec une égale vigueur. D'autre part, le ferment traité par 0,01 p. 1000 de  $TlNO^3$  résiste, dans son milieu thallique usuel, aussi bien et même mieux qu'un ferment normal dans son milieu, vis-à-vis d'une même dose toxique de  $K^3AsO^4$ .

Il ne peut donc être question ni d'une vitalité amoindrie, pour la souche sensibilisée par les traces de thallium, ni d'une sensibilisation générale vis-à-vis de tous les poisons (170).

La sensibilisation est probablement spécifique, et c'est un des arguments qu'on peut invoquer pour faire entrer cette sensibilisation dans le cadre de l'anaphylaxie. Encore faudrait-il démontrer cependant qu'un ferment sensibilisé vis-à-vis du sulfate de cuivre par exemple ne l'est pas également vis-à-vis d'autres toxiques sensibilisants comme le sublimé. C'est une recherche que nous nous proposons de faire à l'occasion.

Depuis que nous avons constaté le phénomène de sensibilisation chez les microbes, Richet et ses collaborateurs ont été amenés à étendre la définition de l'anaphylaxie au phénomène général de diminution de la résistance cellulaire vis-à-vis d'un poison.

### 3° Étude de divers cas de spécificité.

Il n'est pas inutile de rappeler qu'on pourrait évidemment trouver d'autres tests biologiques spécifiques permettant de distinguer entre une race microbienne ayant subi un poison et une race témoin. Voici, par exemple, dans le cas des microbes pathogènes, une intéressante expérience de Fabry (54, 55)

qui montre qu'une injection de Bacille coli « modifiée » par le phénol ne provoque, quand elle est injectée au cobaye, que des agglutinines qui lui sont spécifiques. Ces agglutinines n'agglutinent point des Bacilles coli normaux ; elles n'agglutinent que le Bacille coli modifié.

En ce qui concerne les races de Trypanosomes résistantes aux poisons, on peut considérer avec Laveran et Mesnil (99) la question de la spécificité encore sous un autre angle, à savoir le rapport de la race résistante vis-à-vis de l'hôte. Par exemple, un virus résistant à l'atoxyl et conservé sur Souris reprend sa sensibilité quand on le transplante sur Rat ; mais, si on le reporte sur la Souris après quarante passages sur Rat, il se montre à nouveau résistant (Mesnil et Brimont, 118). Breinl et Nierenstein (11) déterminaient sur l'Ane une race de Protozoaires résistante à l'atoxyl. Mise sur le Rat, elle perd sa résistance, qu'elle reprend une fois replacée sur l'Ane.

D'autre part, Moore, Nierenstein et Todd (122) ont signalé une race résistante sur la Souris, mais point sur le Rat. C'est un cas de spécificité très étroite, et cependant, dans d'autres cas, une race ne manifeste pas sa résistance uniquement sur l'espèce animale dans laquelle elle a été créée. Mesnil et Brimont ont créé une race résistante à la fois chez la Souris, le Cheval, le Chien et le Cobaye, mais non sur le Rat (118).

Suivant les cas, par conséquent, une race résistante peut conserver ou peut perdre sa résistance, quand elle est transportée sur d'autres espèces animales. Le rôle de l'hôte et sa participation à l'acquisition de la résistance vis-à-vis des produits arsenicaux ont été examinés notamment par Levaditi (101-103), Mesnil et Brimont (119), Ehrlich (49), Roehl (182), Levaditi et McIntosh (104).

Leurs recherches montrent bien la complexité du problème de l'action antiseptique *in vivo* par rapport au mécanisme plus simple des actions toxiques *in vitro*.

On voit donc que, dans certains cas au moins, les modifications caractéristiques de l'accoutumance semblent dépendre des conditions du milieu. Il est vrai que, dans les cas cités, on se trouve en présence de toute la complexité d'un milieu

vivant qui prend une part active au processus de l'intoxication, comme l'ont démontré l'ensemble des recherches sur les Trypanosomes. Mais on peut quand même se demander, dans le cas des milieux de culture ordinaires, si la nature de ces milieux ne joue pas un rôle important dans les manifestations de l'accoutumance ou de la sensibilisation.

Nous croyons qu'il serait intéressant de rechercher si un microbe accoutumé ou sensibilisé à un toxique sur un milieu donné conserve ses modifications caractéristiques vis-à-vis du poison, lorsqu'il est placé sur d'autres milieux de cultures. Nous n'avons pas encore les éléments pour résoudre cette question.

## CHAPITRE V

### ACCOUTUMANCE SIMULTANÉE A PLUSIEURS TOXIQUES

Le fait de l'accoutumance à un poison étant établi, la question suivante se pose : la cellule peut-elle simultanément s'accoutumer à deux ou plusieurs poisons ?

Pour la résoudre, on a fait végéter le ferment lactique sur un milieu de culture contenant à la fois deux ou plusieurs toxiques.

Dans ce cas, il y a théoriquement deux processus bien distincts à envisager : 1<sup>o</sup> l'effet immédiat du mélange sur la cellule ; 2<sup>o</sup> la modification physiologique de la cellule ainsi traitée en fonction du temps.

La première question pourrait faire l'objet d'une bibliographie assez riche. Elle se rapporte notamment à la question de l'antitoxicité et des antagonismes entre ions et à celle des solutions physiologiques balancées.

Nous ne retiendrons ici que les indications générales, ainsi que quelques données se rapportant plus spécialement au ferment lactique.

Étendant aux végétaux les recherches maintenant classiques de Loeb et d'autres physiologistes, Osterhout (129-132) a étudié l'action des mélanges de deux solutions renfermant chacune un toxique différent et ayant la même toxicité prises séparément ; il a constaté trois possibilités différentes :

1<sup>o</sup> La toxicité reste inchangée par le mélange, c'est-à-dire qu'on peut remplacer une quantité quelconque d'une des solutions par une quantité égale de l'autre, sans modifier l'effet ;

2<sup>o</sup> La toxicité du mélange peut être inférieure à la toxicité de chacune des solutions prises séparément (effet antitoxique) ;

3° L'effet toxique est renforcé dans le mélange.

En ce qui concerne le ferment lactique, on peut théoriquement envisager ces trois possibilités, comme l'ont fait Richet et Cardot (177); mais les résultats obtenus par ces auteurs relevaient uniquement du deuxième cas. Ce cas est loin d'être général. Ainsi Cardot et Laugier (17) faisant agir simultanément du chlorure de sodium et du chlorure de potassium sur des cultures lactiques ne constatent aucun antagonisme entre les deux sels (premier cas d'Osterhout).

D'autre part, mes recherches personnelles faites avec différents toxiques actifs à faible dose, par exemple arséniate de potassium et sulfate de cadmium, prouvent l'existence fréquente d'un renforcement de la toxicité. Ainsi on peut donc retrouver sur le même ferment lactique les trois possibilités envisagées pour les végétaux supérieurs.

Il faut remarquer que, dans les expériences qui précèdent, les deux processus envisagés (effet toxique immédiat et modification physiologique en fonction du temps) ne peuvent être complètement séparés, puisqu'on opère sur des cultures en pleine activité. Au contraire, en opérant sur des microbes en état de vie ralentie par une basse température, on n'aurait affaire qu'à l'action toxique immédiate, et il n'est pas impossible que les résultats seraient alors tout autres.

Ainsi, il semble résulter d'expériences de Duthoit (34) que l'action toxique du chlorure de sodium agissant sur des microbes à basse température est diminuée par l'addition de KCl ou de CaCl<sup>2</sup>.

Bien que, dans nos précédentes expériences, l'effet toxique soit évalué non pas immédiatement, mais au bout d'un certain temps de fermentation, pendant lequel la modification cellulaire a déjà eu le temps de jouer, il semble cependant probable que c'est surtout le premier processus qui est prépondérant. En effet, l'expérience est de courte durée et ne comporte pas de réensemencements successifs.

Au contraire, pour étudier d'une façon prépondérante le second, il conviendra de prolonger l'expérience, en cultivant le ferment sur le mélange toxique par des réensemencements successifs.

C'est ce sujet qui a été l'un des buts principaux de nos recherches (172). Cette question, à savoir l'accoutumance de la cellule à plusieurs poisons simultanément, n'a pas, croyons-nous, été abordée jusqu'alors.

### 1° Accoutumance simultanée à deux poisons.

L'arsenic, le thallium, le cadmium, pris séparément, sont des poisons accoutumants.

Comment se comportera une cellule microbienne lorsqu'on fera agir sur elle un milieu contenant un mélange d'arséniate de potassium et de chlorure de cadmium ou un mélange d'arséniate de potassium et de nitrate de thallium?

Dans les deux cas, il y a accoutumance simultanée aux deux toxiques introduits dans le milieu. Nous n'exposerons ici que quelques expériences prises parmi les plus typiques.

Dans une expérience préliminaire, nous avons recherché si l'accoutumance à l'arsenic n'était pas entravée par la présence d'un autre toxique.

L'expérience a été conduite de la façon suivante. On a fait végéter trois souches : 1° une souche normale sur milieu témoin ; 2° une souche sur milieu additionné d'arséniate de potassium à 0,05 p. 1 000 (souche arsenicale) ; 3° une souche sur un milieu additionné de nitrate de thallium à 1 p. 1 000 et d'arséniate de potassium à 0,05 p. 1 000 (souche mixte). Au bout de quarante-sept jours de culture, ces trois souches sont ensemencées en même temps sur des tubes contenant des doses croissantes d'arséniate de potassium. Après vingt-quatre heures de fermentation pour les doses faibles et de quarante-huit heures pour les doses fortes, l'acidité développée est représentée par les chiffres suivants en prenant égale à 100 l'acidité développée par la souche témoin sur milieu témoin :

|                         | Sur $K^3AsO^4$ |         |         |         |
|-------------------------|----------------|---------|---------|---------|
|                         | 0gr,05.        | 0gr,45. | 0gr,85. | 1gr,25. |
| Souche témoin.....      | 57             | 0       | 0       | 0       |
| Souche arsenicale ..... | 86             | 50      | 37      | 39      |
| Souche mixte.....       | 86             | 55      | 38      | 36      |

*La Bactérie lactique peut donc s'accoutumer à l'arsenic en présence du nitrate de thallium.* Cette notion va être précisée et élargie par les expériences suivantes :

EXPÉRIENCE I. — On cultive deux souches : 1° une souche témoin sur milieu témoin ; 2° une souche (mixte) sur milieu à  $CdCl^2$  à 0,125 p. 1 000 et à

$K^3AsO^4$  à 0,125 p. 1 000. Au bout de trente-cinq jours de culture, ces deux souches sontensemencées comparativement sur des tubes contenant des doses croissantes de  $CdCl^2$  et  $K^3AsO^4$ . Voici les résultats au bout de vingt-deux heures de fermentation en prenant égale à 100 l'acidité développée par le ferment témoin sur milieu normal :

|                    | Sur $K^3AsO^4$ . |        |       | Sur $CdCl^2$ . |
|--------------------|------------------|--------|-------|----------------|
|                    | 0gr,25.          | 0gr,50 | 1 gr. | 0gr,25. .      |
| Souche témoin..... | 0                | 0      | 0     | 0              |
| Souche mixte.....  | 52               | 33     | 12    | 68             |

Ainsi, cette expérience (fig. 11, A.) et beaucoup d'autres, faites dans le même but et de la même façon, ont nettement démontré ce fait que *des cellules microbiennes peuvent s'accoutumer simultanément à deux poisons* (172).

## 2° Accoutumance et sensibilisation simultanées.

Dans nos expériences citées dans un des chapitres précédents, nous avons indiqué l'existence de poisons qui peuvent à doses convenables rapidement sensibiliser. Ces toxiques sont le bichlorure de mercure et le sulfate de cuivre et aussi le chlorure de platine. Les expériences suivantes montrent le fait remarquable que *des cultures microbiennes végétant sur un milieu contenant un poison accoutumant et un poison sensibilisant s'accoutument à l'un et se sensibilisent en même temps à l'autre* (174).

EXPÉRIENCE II. — Comme type de poison accoutumant est pris l'arsenic ; le mercure représente le toxique sensibilisant par excellence. Nous avons fait végéter une souche lactique sur un milieu contenant à la fois ces deux toxiques :  $HgCl^2$  à 0,0002 p. 1 000 et  $K^3AsO^4$  à 0,04 p. 1 000. Les toxiques ne sont pas stérilisés dans le milieu ; leurs solutions sont stérilisées séparément et ajoutées aseptiquement aux tubes de milieu stérile (nous avons déjà noté antérieurement la diminution de toxicité de  $HgCl^2$  stérilisé avec le milieu). Les épreuves ont été faites sur cette souche lactique et sur une souche témoin après un jour et treize jours de culture. Pour faciliter la comparaison des résultats qu'elles fournissent, on peut évaluer toujours à 100 l'acidité formée par le ferment témoin sur les différents milieux toxiques : les nombres obtenus ainsi sont indiqués entre parenthèses, à côté des acidités réelles exprimées en centimètres cubes de  $KOH$  N/50 neutralisant 10 centimètres cubes de culture. Les dosages ont été faits dans tous les cas au bout de dix-huit heures d'étuve.

|                                | Sur HgCl <sub>2</sub> .<br>0,00934 p. 1 000. | Sur K <sup>3</sup> AsO <sub>4</sub> .<br>0,06 p. 1 000. |
|--------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 1° Après 1 jour de culture :   |                                              |                                                         |
| Souche témoin.....             | 3,4 (100)                                    | 6,2 (100)                                               |
| Souche mixte.....              | 0,9 (39)                                     | 6,7 (108)                                               |
| 2° Après 13 jours de culture : |                                              |                                                         |
| Souche témoin.....             | 4,8 (100)                                    | 0,6 (100)                                               |
| Souche mixte.....              | 2,3 (47,5)                                   | 2,3 (390)                                               |

Il résulte de cette expérience (Fig. 11, C) que *la souche mixte est sensibilisée au bichlorure de mercure et accoutumée en même temps à l'arséniate de potasse.*

EXPÉRIENCE III. — Cette expérience (fig. 11, E) a été plus complète que la précédente. Comme terme de comparaison, nous prenons, outre la souche témoin, une souche accoutumée à l'un des poisons (souche cadmique) et une souche sensibilisée à l'autre (souche cuivrique).

Donc, nous avons cultivé quatre souches : *a.* souche normale sur milieu normal ; *b.* souche cuivrique sur milieu additionné de sulfate de cuivre à 0,006 p. 1 000 ; *c.* souche cadmique sur un milieu additionné de sulfate de cadmium à 0,1 p. 1 000 ; *d.* souche mixte sur milieu additionné de sulfate de cuivre à 0,006 p. 1 000 et de sulfate de cadmium à 0,1 p. 1 000.

Au bout de onze jours de culture, ces souches ont étéensemencées sur des milieux à doses croissantes de cadmium et de cuivre, de la façon suivante : les trois souches, témoin, cuivrique et mixte, sur des tubes additionnés de sulfate de cuivre ; les trois souches témoin, cadmique et mixte, sur des tubes additionnés de sulfate de cadmium. Le dosage a été fait au bout de vingt-quatre heures d'étuve ; les résultats sont résumés dans le tableau suivant, où nous indiquons entre parenthèses, à côté des acidités réelles, les acidités exprimées en p. 100 de celles d'une fermentation témoin sur milieu normal.

| <i>Série sur SO<sup>4</sup>Cu.</i>  | 0,0075 p. 1 000  | 0,01 p. 1 000     |                  |
|-------------------------------------|------------------|-------------------|------------------|
| —                                   | —                | —                 |                  |
| Souche témoin . . . . .             | 17,8 (81 p. 100) | 12,0 (54 p. 100)  |                  |
| Souche cuivrique. . . . .           | 15,2 (69 — )     | 10,7 (48 — )      |                  |
| Souche mixte . . . . .              | 2,8 (13 — )      | 2,1 (9,5 — )      |                  |
| <i>Série sur SO<sup>4</sup> Cd.</i> | 0,15 p. 1 000    | 0,25 p. 1 000     | 0,5 p. 1 000     |
| —                                   | —                | —                 | —                |
| Souche témoin . . . . .             | 2,2 (10 p. 100)  | 0                 | 0                |
| Souche cadmique . . . . .           | 19,0 (86 — )     | 17,9 (81 p. 100)  | 17,7 (80 p. 100) |
| Souche mixte. . . . .               | 8,0 (36 — )      | 4,1 (18,8 p. 100) | 0                |

EXPÉRIENCE IV. — Une expérience analogue (fig. 11, F) a été faite avec un autre milieu et des doses un peu différentes ; la culture a duré dix jours, et les dosages d'épreuve ont été faits au bout de vingt-quatre heures pour les milieux cadmiques et quarante-deux heures pour le milieu à CuSO<sub>4</sub>. La souche témoin sur milieu ordinaire donnait en vingt-quatre heures une acidité de 28,6 et au bout de quarante-deux heures une acidité de 37,7 ; ces nombres servent de base pour calculer les croîts en p. 100 dans la série suivante :

|                    | $\text{CdSO}_4$ à 0,25 p. 1 000<br>(24 h.) | $\text{CdSO}_4$ à 0,5 p. 1 000.<br>(24 h.) | $\text{CuSO}_4$ à 0,05 p. 1 000<br>(42 h.). |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Souche témoin...   | 23,0 (80 p. 100)                           | 4,8 (17 p. 100)                            | 4,0 (10 p. 100)                             |
| Souche cadmique.   | 25,2 (88 — )                               | 19,4 (67 — )                               | »                                           |
| Souche cuivrique.. | »                                          | »                                          | 1,4 (4 p. 100)                              |
| Souche mixte....   | 24,6 (86 — )                               | 15,3 (53 — )                               | 1,9 (5 — )                                  |

Ces deux dernières expériences démontrent avec grande netteté l'accoutumance de la cellule bactérienne au sulfate de cadmium, en même temps qu'une sensibilisation au sulfate de cuivre.

D'autre part, nous avons fait aussi des expériences analogues en choisissant comme toxique accoutumant l'arsenic et comme sensibilisant le cuivre.

EXPÉRIENCE V. — Une souche témoin végète sur milieu témoin; de même une deuxième souche sur milieu à 0,05 p. 1 000 de  $\text{K}^3\text{AsO}_4$ ; une troisième sur milieu à 0,0075 p. 1 000 de  $\text{CuSO}_4$ , et enfin une quatrième (mixte) sur un milieu additionné de ces deux toxiques,  $\text{K}^3\text{AsO}_4$  à 0,05 p. 1 000 +  $\text{CuSO}_4$  à 0,0075 p. 1 000. Au bout de dix jours de culture, ces quatre souches sont ensemencées comparativement sur des doses croissantes de  $\text{CuSO}_4$  et de  $\text{K}^3\text{AsO}_4$ . L'acidité développée par le témoin sur le milieu normal étant, au bout de vingt-quatre heures d'étuve, de 28,6, les souches mises sur milieux toxiques ont donné les acidités réelles que nous indiquons ci-dessous. Nous rapportons encore les nombres obtenus à l'acidité du ferment témoin sur milieu témoin, prise égale à 100 (fig. 11, D).

|                    | Sur $\text{CuSO}_4$<br>à 0,05 p. 1 000. | Sur $\text{K}^3\text{AsO}_4$<br>à 0,075 p. 1 000. | Sur $\text{K}^3\text{AsO}_4$<br>à 0,1 p. 1 000. |
|--------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Souche témoin...   | 4,0 (14 p. 100)                         | 6,8 (24 p. 100)                                   | 1,2 (4 p. 100)                                  |
| Souche cuivrique.  | 1,4 (4,9 — )                            | »                                                 | »                                               |
| Souche arsenicale. | »                                       | 25,4 (89 — )                                      | 19,5 (68 — )                                    |
| Souche mixte....   | 3,2 (11,2 — )                           | 24,2 (85 — )                                      | 18,5 (65 — )                                    |

### 3<sup>e</sup> Modifications produites par l'action simultanée de plusieurs toxiques.

Nous avons cherché jusqu'où allait la complexité des réactions chez le Bacille lactique. Ainsi, mis sur un milieu additionné de trois toxiques ( $\text{CdSO}_4$  à 0,1 p. 1 000 +  $\text{TlNO}_3$  à 0,5 p. 1 000 +  $\text{CuSO}_4$  à 0,006 p. 1 000), il a été accoutumé au cadmium et au thallium, et sensibilisé en même temps au cuivre.

Enfin, ayant subi, même pendant un temps assez court, l'action de cinq toxiques différents:  $\text{MnCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{CrO}_4$ ,  $\text{K}^3\text{AsO}_4$ ,

$\text{TiNO}^3$ ,  $\text{CdSO}^4$ , le ferment lactique a été nettement accoutumé à tous les cinq (fig. 11, B).

Il faut noter que cette dernière expérience a dû être faite autrement que les précédentes, étant donné que certains sels formaient un précipité lorsqu'on les mettait en présence les uns avec les autres. La souche en expérience (mixte) a étéensemencée et mise à l'étuve pendant quarante-huit heures sur un mélange contenant  $\text{CdSO}^4$  à 0,4 p. 1 000 +  $\text{K}^3\text{AsO}^4$  à 0,02 p. 1 000 +  $\text{TiNO}^3$  à 1,6 p. 1 000 ; au bout de ce temps, elle a été réensemencée sur un milieu additionné de  $\text{MnCl}^2$  à 1,5 p. 1 000 +  $\text{Na}^2\text{CrO}^4$  à 0,125 p. 1 000, et mise de nouveau à l'étuve pour quarante-huit heures. Ensemencée sur milieux toxiques comparativement avec la souche témoin, cette souche intoxiquée par cinq toxiques a donné les résultats suivants (en p. 100 d'une fermentation témoin sur milieu normal).

|                                                | Souche témoin. | Souche mixte. |
|------------------------------------------------|----------------|---------------|
| Sur $\text{Na}^2\text{CrO}^4$ : 0,125 p. 1 000 | 72             | 94            |
| — 0,25 —                                       | 19             | 35            |
| Sur $\text{K}^3\text{AsO}^4$ : 0,03 —          | 78             | 79            |
| — 0,05 —                                       | 56             | 66            |
| Sur $\text{TiNO}^3$ : 2,4 —                    | 71,5           | 85,3          |
| — 4,0 —                                        | 54,5           | 67            |
| Sur $\text{CdSO}^4$ : 0,2 —                    | 86,5           | 93,2          |
| Sur $\text{MnCl}^2$ : 3,5 —                    | 79,5           | 84,2          |

Par conséquent, *cinq toxiques différents agissant en un court intervalle de temps laissent tous leur empreinte sur la cellule microbienne.*

L'ensemble de ces expériences démontre donc *la complexité remarquable du protoplasme microbien, s'accoutumant à un ou plusieurs poisons, en même temps qu'il se sensibilise à d'autres.*

#### 4° Accoutumance dans l'intoxication par deux poisons agissant alternativement.

Dans les expériences citées ci-dessus, nous avons soumis la cellule à l'action de deux ou plusieurs poisons. Cette action s'exerçait dans tous les cas (sauf dans le cas de l'accoutumance à cinq poisons) simultanément.

Mais il y a encore un autre moyen de soumettre une cellule à l'influence de deux poisons ; ce procédé consiste à faire végéter la culture lactique alternativement pendant un passage sur l'un, pendant un passage sur l'autre toxique,

et ainsi de suite. L'intoxication dans ce cas ne se fait plus simultanément, mais alternativement. Nous avons, à maintes reprises, signalé le fait que la cellule microbienne s'accoutumait à la présence de

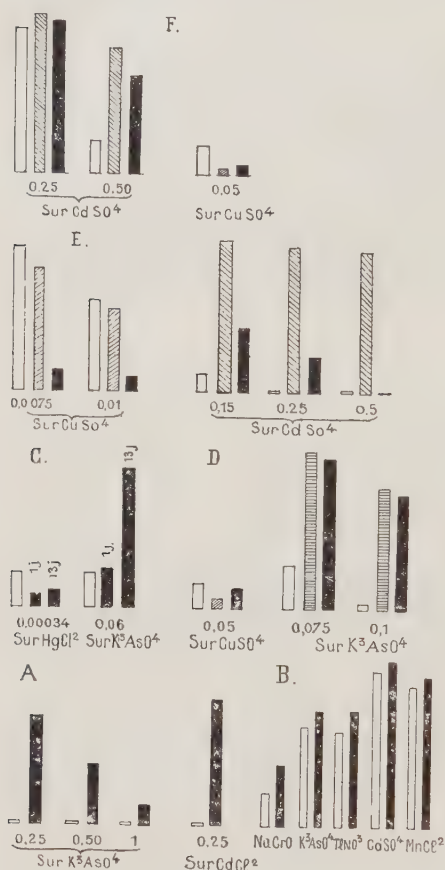


Fig. 11. — Accoutumance simultanée et accoutumance et sensibilisation. (Les hauteurs des rectangles sont proportionnelles au croît des différentes souches : souches témoins en blanc ; souches mixtes en noir ; souches n'ayant subi que l'action d'un toxique en traits hachurés.)

moins donnait seulement 23,8 (moyennes des dosages de quatre cultures).

tumait à la présence de l'arsenic et qu'elle se sensibilisait sous l'influence du sublimé, et nous nous sommes posé la question de savoir si une souche accoutumée à l'arséniate de potasse, à la suite de plusieurs passages successifs, ne perdait pas sa résistance acquise, une fois soumise pendant un certain temps au sublimé. L'expérience ci-dessous montre que la végétation sur sublimé (à dose sensibilisante) ne supprime pas l'accoutumance antérieure à l'arsenic.

Ainsi, une culture lactique a subi pendant huit jours l'arséniate de potasse à la dose de 0,1 p. 1 000 ; puis elle végétait pendant huit jours sur bichlorure de mercure à 0,00023 p. 1 000 ; ensemencée sur milieu arsenical ( $K^3AsO^4$  à 0,1 p. 1 000) comparativement avec un ferment témoin, elle a donné un croît de 34,6, tandis que le témoin donnait seulement 23,8 (moyennes des dosages de quatre cultures).

Après cette expérience préliminaire, nous exposerons les résultats de quelques-unes des nombreuses expériences faites

avec des poisons accoutumants, dans lesquelles nous avons fait agir alternativement à chaque passage l'un ou l'autre des toxiques (172).

On constate que, dans ces conditions, l'accoutumance vis-à-vis de chacun des toxiques se fait tout de même; mais il est évident que, si on compare une souche qui a subi simultanément l'action des deux poisons pendant quinze jours par exemple et une souche qui a subi pendant le même temps l'action alternative de ces mêmes poisons, l'accoutumance sera plus ample pour la première que pour la seconde. Pour cette dernière, en effet, chaque toxique n'agit que la moitié du temps.

EXPÉRIENCE I. — Sur milieu additionné de  $\text{CdCl}_2$  à 0,125 p. 1 000 et de  $\text{K}^3\text{AsO}_4$  à 0,125 p. 1 000 végète une souche lactique (souche mixte); une autre (souche alternée) subit un réensemencement sur milieu à  $\text{CdCl}_2$  à 0,125 p. 1 000; le réensemencement suivant se fait sur milieu à  $\text{K}^3\text{AsO}_4$  à 0,125 p. 1 000, le suivant sur  $\text{CdCl}_2$  et ainsi de suite. Au bout de onze jours de culture, ces deux souches lactiques intoxiquées, l'une par deux poisons simultanément, l'autre par les mêmes poisons, mais alternativement, sont ensemencées sur milieu cadmique d'une part et sur milieu arsenical de l'autre. Une souche normale sert de témoin. Les chiffres exprimant les acidités produites par ces souches (au bout de quarante-six heures d'étuve) sont la moyenne de dosages de cinq cultures: 1° sur  $\text{K}^3\text{AsO}_4$  à 1 p. 1 000, la souche témoin donne 0, la souche mixte 18 et la souche alternée 11,9; 2° sur  $\text{CdCl}_2$  à 0,5 p. 1 000, la souche témoin donne 1,4, la souche mixte 15,1 et l'alternée 13,4.

Donc *l'alternance des poisons n'empêche pas toute accoutumance.*

EXPÉRIENCE II. — On cultive trois souches, l'une végète sur milieu toxique à 0,05 p. 1 000 de  $\text{K}^3\text{AsO}_4$ , la deuxième sur milieu additionné de  $\text{K}^3\text{AsO}_4$  à 0,05 p. 1 000 +  $\text{TINO}_3$  à 1 p. 1 000 (souche mixte), et la troisième subit alternativement ces deux toxiques aux mêmes doses. Au bout de sept semaines de végétation, ces trois souches sont ensemencées sur milieux à doses croissantes de  $\text{K}^3\text{AsO}_4$ ; chaque nombre est la moyenne des dosages de quatre cultures après quarante-huit heures d'étuve.

|                      | Doses de $\text{K}^3\text{AsO}_4$ p. 1000. |         |         |         |
|----------------------|--------------------------------------------|---------|---------|---------|
|                      | 0gr,05.                                    | 0gr,45. | 0gr,85. | 1gr,25. |
| Souche arsenicale... | 31,5                                       | 18,3    | 13,5    | 14,3    |
| Souche mixte.....    | 31,3                                       | 20,2    | 14      | 13,3    |
| Souche alternée....  | 27,8                                       | 0       | 0       | 0       |

On voit la différence très considérable, bien visible sur-

tout pour les doses fortes, entre l'accoutumance de la souche mixte et celle de la souche alternée. Cette différence est telle qu'elle ne semble pas devoir être exclusivement expliquée par le fait qu'une des souches subit l'action de chaque toxique pendant deux fois moins de temps que l'autre. Il semble donc en outre que *l'alternance entrave dans une certaine mesure l'accoutumance*. Rappelons à ce sujet que Charles Richet (166) avait insisté sur l'intérêt pratique que présenterait dans l'antisepsie des plaies une alternance systématique des substances antiseptiques pour éviter autant que possible l'accoutumance des microbes à ces poisons.

---

## CHAPITRE VI

### QUELQUES REMARQUES SUR LE MÉCANISME ET LES MODALITÉS DE LA VARIATION

Par les nombreux exemples examinés dans les chapitres précédents, nous voyons se dégager ce fait important *que l'action d'un toxique sur une série de générations microbiennes entraîne une variation notable des propriétés cellulaires*. Dans un grand nombre de cas, cette variation se fait dans le sens d'une adaptation au milieu, c'est-à-dire que le microbe devient de mieux en mieux capable de végéter sur le milieu toxique. Cependant ce n'est pas là une règle générale, comme le montrent les nombreux exemples de sensibilisation ou d'anaphylaxie, que nous avons rapportés et dans lesquels la résistance microbienne diminue graduellement, parfois suffisamment pour éteindre la végétation sur le milieu toxique. Nous avons donc à tenir compte de ces deux ordres de faits pour tenter d'apporter quelques précisions sur le processus de variation corrélatif à l'intoxication.

Dans le cas où les microbes s'accoutument aux toxiques, où il se crée donc une race résistante différente de la race originelle, deux interprétations peuvent être proposées. Ces interprétations ne sont que l'application au cas particulier qui nous occupe des théories darwiniennes ou des théories lamarckiennes :

1<sup>o</sup> *La formation de la race résistante ne comporte pas l'apparition de caractères réellement nouveaux, mais consiste en une élimination graduelle des individus les moins résistants au toxique, pour ne laisser subsister que les plus résistants, qui transmettront leur résistance à la descendance.*

Le milieu n'interviendrait donc pas ici directement pour modifier les propriétés de la cellule ; il n'interviendrait que

d'une façon *indirecte* pour modifier les conditions de lutte et les chances de survie des divers germes d'une même culture, germes tant soit peu différents les uns des autres.

2° *Le milieu exercerait une influence modificatrice directe sur les propriétés du protoplasme. Il provoquerait l'apparition de caractères morphologiques ou physiologiques nouveaux ou l'amplification de caractères préexistants; il y aurait acquisition de caractères sous l'influence du milieu.*

De même que dans la formation de nouvelles races ou espèces, animales et végétales, dans la formation des races microbiennes il semble bien probable que *ces hypothèses fondamentalement distinctes comportent chacune une part de vérité.*

Sous l'influence des conditions extérieures, le nouveau caractère se révèle. Mais les germes microbiens, même provenant d'une culture pure supposée homogène, ne doivent pas être sans doute tous rigoureusement identiques, ni réagir exactement de la même façon à l'intoxication; par conséquent une sélection doit être possible entre ces germes.

Nous allons examiner successivement quelques-uns des arguments tirés de l'expérience qui indiquent la mise en œuvre de l'un ou de l'autre de ces processus.

### **1° Sélection des germes résistants.**

Dans la création de races de Trypanosomes, résistantes à l'action de certains toxiques, on a pu observer le cas où il se réalise une race résistante stable par contact des Protozoaires avec le toxique *in vitro* pendant quelques minutes. Levaditi (128) a pu légitimement supposer qu'il s'agit là simplement d'une sélection des individus résistants. De même, pareil processus pourrait peut-être être invoqué dans celles de nos expériences personnelles où nous avons fait agir le toxique à froid sur les cultures microbiennes (Voir chap. III). Nous rappelons que nous avons observé dans ces conditions une phase initiale où la résistance des microbes était augmentée, d'ailleurs dans des limites assez restreintes. Ces expériences ne permettent pas de conclure d'une façon

certaine, mais nous tenons à remarquer qu'elles n'excluent pas le processus de sélection dans la première période du contact.

Des constatations beaucoup plus précises ont été faites par Effront (44, 45) sur les Levures.

En acclimatant la Levure de bière à des poisons minéraux et en employant comme indicateur de la vie cellulaire le bleu de méthylène, qui se fixe sur les cellules mortes en les colorant et qui laisse incolores les cellules vivantes, cet auteur a pu constater que l'acclimatation est accompagnée d'une élimination des cellules qui ne peuvent résister au toxique. Dans l'acclimatation de la Levure au fluorure de sodium notamment, on voit, la dose de poison restant constante, qu'il y a une mortalité très forte lors des premiersensemencements ; puis elle diminue graduellement jusqu'à s'annuler. Si on augmente la dose après une première phase d'acclimatation, on obtient de nouveau des cellules qui se colorent par le bleu. Aussi Effront est-il amené à admettre qu'« entre les descendants de mêmes cellules il doit s'en trouver qui diffèrent soit quantitativement, soit qualitativement... ».

*La formation de la race résistante débute donc par une sélection*, d'où la nécessité pour les premiersensemencements sur milieu toxique d'employer toujours des notables quantités de semence pour être sûr d'avoir au moins quelques cellules résistantes. D'après nos expériences personnelles, nous ne pouvons que confirmer la justesse de cette observation.

Des constatations du même ordre se retrouvent dans les recherches de Fulmer (59) relatives à l'acclimatation de la Levure au fluorure d'ammonium. De l'ensemble des expériences de Hansen (77, 78) et du laboratoire de Carlsberg résulte aussi cette conclusion qu'entre les cellules nées d'une cellule originelle se manifestent souvent des différences soit morphologiques, soit physiologiques, et que, suivant les conditions de la culture, la sélection peut jouer en faveur des porteurs de tel ou tel caractère. Ainsi peuvent se constituer par sélection des races données douées de propriétés spéciales. On peut par exemple obtenir avec *Saccharomyces cerevisiae* et

*Saccharomyces Carlsbergensis* des races différentes les unes des autres par leur pouvoir fermentatif.

De même, dans les cultures pures de la forme basse de *Saccharomyces turbidans*, peuvent se former par un processus sur lequel nous reviendrons plus loin des cellules de Levure haute. Suivant les conditions de culture, les deux formes peuvent alors coexister, ou au contraire l'une des deux peut, par sélection, prendre la prépondérance sur l'autre. Lorsque la culture est faite à 0°5, on voit la forme haute prendre la prépondérance sur la basse, parce que cette température, très voisine pour les deux formes du minimum de développement, est toutefois moins défavorable pour la haute que pour la basse (80, 81).

Inutile de multiplier ces exemples.

*Les diverses catégories de l'espèce sont en lutte continuelle* (Hansen).

La notion que des dissemblances peuvent apparaître entre les cellules d'une même culture pure et que ces dissemblances peuvent être maintenues et accrues par la sélection, cette notion se trouve à la base de la réalisation des Levures sélectionnées dont l'usage s'est répandu dans les industries de fermentation.

Dans l'étude de l'accoutumance du ferment aux toxiques, Charles Richet (167) a également invoqué une inégale résistance et un inégal pouvoir d'accoutumance des différents germes vis-à-vis du poison. Il s'est basé sur ce fait qu'*en milieu toxique, des cultures lactiques identiques et semblablement ensemencées ne se développent pas toutes avec la même vitesse*. Une série de telles cultures donne au dosage des acidités différentes, et on peut définir cette inégalité de la série par l'écart moyen de la moyenne. Ce coefficient de variabilité se montre, avec certains poisons, énormément plus grand qu'avec les cultures témoins, tandis qu'avec d'autres poisons la variabilité n'est pas plus grande que celle des cultures témoins. Aussi Richet, Cardot et Le Rolland (176, 179) ont-ils pu distinguer parmi les substances antiseptiques des antiseptiques réguliers, dont le type est le fluorure de sodium, et des antiseptiques irréguliers. Les plus fortes

irrégularités ont été constatées avec le bichlorure de mercure. Cardot et Richet (18) ont précisé les conditions dans lesquelles s'observent les plus grandes irrégularités, avec un autre toxique, l'arséniate de potasse. L'écart, très faible dans les premières heures de la fermentation, augmente ensuite, atteint un maximum et décroît finalement lorsqu'on se trouve au voisinage de l'acidité limite de la fermentation.

Deux faits importants sont à retenir : 1° on obtient des écarts d'autant plus grands que la dose toxique utilisée est plus forte ; 2° les irrégularités sont d'autant plus marquées que les tubes ont étéensemencés plus parcimonieusement.

Richet et ses élèves (18, 167, 178) ont admis que les irrégularités qui apparaissent ainsi avec certains poisons sont en étroite liaison avec l'accoutumance, et ils ont supposé que, *parmi les germes déposés dans les cultures, il n'y en avait qu'un très petit nombre susceptibles de s'accoutumer aux poisons considérés.*

Si le pourcentage des germes résistants et pouvant s'adapter au toxique est très petit par rapport aux germes non résistants, on peut concevoir que les diverses cultures d'une même série, quoique ayant reçu à peu près le même nombre total de microbes, peuvent, par l'effet du hasard, être inégalement pourvues en germes accoutumables. Ainsi s'expliqueraient ces irrégularités. Cette hypothèse a trouvé appui dans l'expérience suivante. Si l'on compare les écarts que donnent en milieu toxique une souche témoin et une souche accoutumée au poison, on voit que la première donne, nous venons de le dire plus haut, des écarts considérables, tandis que la souche accoutumée, qui ne renferme sans doute que des germes résistants, ne donne pas plus d'irrégularité qu'une souche témoin ensemencée sur milieu témoin (18).

Nous donnerons nous-même ici une expérience faite avec le nitrate de thallium.

EXPÉRIENCE. — On a ensemencé trois séries de tubes : 1° ferment témoin sur milieu témoin ; 2° ferment témoin sur milieu à  $\text{TINO}^3$  à 1 p. 1 000 ; 3° ferment accoutumé depuis dix-sept jours à  $\text{TINO}^3$  à 1 p. 1 000 sur ce même milieu thallique. Aux diverses phases de la fermentation, on dose, dans chacune des séries, une vingtaine de tubes, de façon à déterminer l'acidité moyenne et

l'écart moyen de la moyenne. Le tableau suivant et le graphique (fig. 12) montrent, pour chacune des séries, la variation de l'écart moyen en fonction de l'acidité croissante :

| Fermentations normales. |        | Ferment non accoutumé sur milieu thallique. |        | Ferment accoutumé sur milieu thallique. |        |
|-------------------------|--------|---------------------------------------------|--------|-----------------------------------------|--------|
| Acidité.                | Écart. | Acidité.                                    | Écart. | Acidité.                                | Écart. |
| 18,9                    | 1,1    | 3,9                                         | 2,05   | 5,6                                     | 2,1    |
| 22,8                    | 1,7    | 13,9                                        | 6,4    | 14,1                                    | 1,2    |
| 33,8                    | 1,3    | 19,3                                        | 5,6    | 25,5                                    | 1,3    |
| 42,4                    | 0,9    | 23,7                                        | 6,8    | 26,8                                    | 0,6    |

On voit donc qu'un ferment accoutumé, même depuis peu de temps, au nitrate de thallium donne sur milieu thallique des écarts du même ordre de grandeur que ceux des fermentations témoins, tandis qu'un ferment non accoutumé donne

sur le même milieu thallique des écarts très considérables.

Cardot et Laugier (15), plaçant le ferment lactique sur des fortes dose de KCl, ont constaté au début de grandes irrégularités, qui allaient peu à peu en s'affaiblissant à mesure que se prolongeait la culture sur le milieu toxique.

Par conséquent, les irrégularités dans la fermentation se manifestent au début de l'action du toxique ; elles s'atténuent et disparaissent à mesure que progresse l'accoutumance.

Ceci est donc tout à fait en accord avec l'hypothèse de Richet.

Cependant cette interprétation a été récemment l'objet de vives critiques de la part de A. Lumière. Il est vrai que cet auteur n'a examiné que le cas du bichlorure de mercure. Il se refuse à admettre qu'il puisse exister des différences individuelles entre les cellules d'une même culture pure.

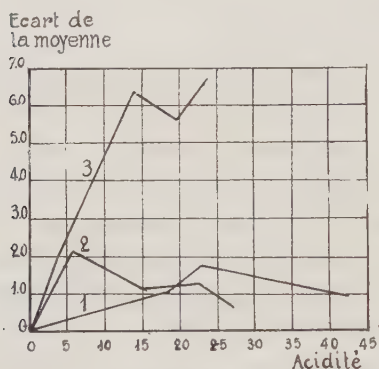


Fig. 12. — Irrégularités des cultures en milieu thallique : 1° avec un ferment non accoutumé au Tl (3) ; 2° avec un ferment accoutumé (2), comparées à celles d'un ferment témoin sur milieu normal (1).

Dans un premier mémoire (109), examinant toutes les causes possibles de dissemblance entre les cultures d'une même série (diamètre des tubes, réaction propre des récipients, hétérogénéité du milieu, imprécisions dans les dosages et les mesures volumétriques, inégalités dans les ensemencements, perturbations introduites dans les milieux mercuriques du fait de la stérilisation) (1), il a insisté en somme sur des causes d'erreur possibles que Richet et ses collaborateurs avaient indiquées avant lui, et il a d'abord admis que toutes les irrégularités constatées tenaient à des erreurs expérimentales. Mais, dans un second mémoire, il a reconnu qu'en prenant toutes les précautions qu'il avait lui-même indiquées on pouvait néanmoins observer dans les milieux mercuriques de notables écarts. Comme l'avaient fait remarquer Cardot (13) et Richet (169), les diverses causes d'erreur incriminées avaient été dans leurs expériences réduites au minimum, et d'ailleurs elles ne peuvent qu'être identiques pour les séries de cultures mercuriques, et pour les séries de cultures témoins auxquelles on les compare. Lumière (110) a alors invoqué l'influence perturbatrice de la mousse qui se forme à la surface des milieux de culture au cours des manipulations. Cette cause d'erreur ne pouvait pas non plus être envisagée dans la technique de Richet et de ses collaborateurs. Dans un troisième travail (111), Lumière attribue enfin les écarts au fait qu'en ensemençant on introduit, avec les germes vivants, des amas plus ou moins importants de Bacilles morts, auxquels il attribue, gratuitement d'ailleurs, la propriété de fixer le sel mercurique. On voit que les arguments invoqués par A. Lumière ne sont pas de nature à entraîner la conviction. D'ailleurs, il s'est borné à l'étude du mercure, poison agissant à très faible dose, et le rôle qu'il attribue aux Bacilles morts ou à la mousse ne pourrait guère être invoqué dans le cas de poisons comme le nitrate de thallium et surtout le chlorure de potassium, qui n'agissent qu'à concentrations beaucoup plus élevées. Enfin, il aurait fallu tenir compte, comme l'a fait remarquer Cardot (13), du fait que les irrégularités

(1) Voir Chap. I, § 7.

s'atténuent, quand le Bacille, cultivé depuis plusieurs semaines sur le toxique, a notablement augmenté sa résistance.

L'hypothèse et les constatations de Richet ont d'ailleurs été confirmées aussi par Gorini (70) et tout récemment par Gratia (72). Ce dernier, rappelant les travaux d'Effront et de Fulmer sur les Levures, de Richet et Cardot sur le ferment lactique, apporte à son tour des faits observés sur de nombreux Bacilles pathogènes et dans l'étude du phénomène de la lyse microbienne transmissible. Il arrive également à la conclusion formelle que, contrairement à l'opinion la plus courante, une culture microbienne, même provenant d'un seul germe, n'est pas un ensemble homogène constitué d'éléments tous identiques entre eux. Elle représente au contraire un terrain essentiellement mouvant où toutes espèces de variations, qualitatives et quantitatives, morphologiques et physiologiques, peuvent se manifester.

### **2° Variation acquise sous l'action du milieu.**

De la revision qui vient d'être faite, il semble donc permis de conclure que des différences individuelles peuvent se manifester au sein de l'espèce microbienne et que la sélection joue sans cesse entre les différents individus, qu'il s'agisse de Protozoaires, de Levures ou de Bactéries.

Mais ce n'est certainement pas par cet unique processus que se constituent les nouvelles races. Dans bien des cas, l'explication de l'accoutumance des races microbiennes par la sélection est tout à fait insuffisante. Le plus souvent, dans l'accoutumance à un poison, il faut admettre, en outre, qu'il y a renforcement de la résistance du protoplasme vis-à-vis de ce poison, et il arrive en effet un moment où la dose toxique devient pour la race accoutumée très notablement supérieure à ce qu'elle est pour n'importe quel individu de la souche initiale.

La mesure de la résistance a fait dans le cas des Trypanosomes l'objet d'assez nombreux travaux qui démontrent cette élévation considérable, spécialement dans le cas de l'émétique *in vitro* (Mesnil et Brimont).

Au cours de l'exposé de nos recherches personnelles, nous avons montré aussi que les plus fortes doses de nitrate de thallium supportées par une souche accoutumée empêchaient infailliblement tout développement de la souche témoin. Même résultat dans l'accoutumance à l'arséniate de potasse, au sulfate de cadmium et aux chlorures alcalins.

Il faut donc évidemment admettre qu'il y a, à côté de la sélection possible, une modification des propriétés héréditaires du protoplasme, c'est-à-dire une indéniable variation acquise.

Cette conception se trouve encore renforcée si l'on réfléchit aux cas d'accoutumance simultanée à deux ou plusieurs poisons. Nous avons vu, en effet, qu'une même souche traitée par plusieurs toxiques présente vis-à-vis de chacun d'eux des réactions spécifiques indépendantes les unes des autres. Si l'on supposait qu'une souche ainsi modifiée s'est constituée simplement par la sélection, on serait presque dans l'obligation d'admettre qu'elle est composée d'un mélange d'autant de races sélectionnées qu'il y a de toxiques. Cette hypothèse est compliquée, mais elle n'est pas absurde. Cependant elle doit être rejetée dans le cas où il y a accoutumance à un poison et sensibilisation à un autre. Admettons, en effet, un instant qu'une telle souche mixte soit le mélange d'une race A accoutumée à un poison *a* et d'une autre B sensibilisée à un poison *b*. On comprend très bien que le caractère spécifique de A s'aperçoive quand on cultive la souche mixte sur un milieu renfermant le poison *a*; mais on ne peut pas concevoir que le caractère spécifique de B (sensibilisation) puisse être perçu quand onensemence la souche mixte sur milieu renfermant le poison *b*, car on aensemencé en même temps que B la race A, qui n'est pas, elle, par hypothèse sensibilisée, et qui masquera par conséquent la végétation de la première.

Enfin, les variations physiologiques s'accompagnent parfois, comme nous le verrons, de l'apparition de caractères morphologiques nouveaux.

L'ensemble de cet exposé doit donc nous convaincre que la sélection et l'influence directe des milieux ont toutes deux leur rôle à jouer dans la formation des nouvelles races.

Une très belle expérience démontrant l'intervention des deux processus biologiques : de la sélection et de l'influence du milieu sur la formation des races résistantes aux poisons a été faite par Cardot et Laugier (16). Voici comment ces auteurs avaient procédé.

Une souche lactique était cultivée pendant plus d'un an sur milieu à KCl à 34 p. 1 000. Ilsensemencèrent alors cette souche devenue très résistante au chlorure de potassium, sur milieu témoin de la façon suivante : dans un tube de milieu témoin, ils introduisaient une anse de culture potassique, puis une anse de culture témoin. On mettait donc sur un milieu exempt de KCl en concurrence vitale deux souches : une normale et une acclimatée au KCl. Au bout de deux, de huit et de seize jours de culture sur milieu normal, ce mélange de deux races différentes était réensemencé sur un milieu potassique, comparativement avec une souche témoin, et on comparait la résistance à KCl de la souche mélangée et du témoin. On constatait que graduellement, mais rapidement, la résistance de la souche mélangée diminuait et qu'au bout de seize jours elle était devenue égale à celle du témoin. Il était donc évident que, dans le mélange cultivé sur milieu normal, la souche témoin éliminait rapidement la souche potassique. Cette expérience démontre donc en toute netteté la mise en jeu de deux processus de la variation : 1° *variation adaptative aux conditions du milieu extérieur* ; 2° *sélection des germes les mieux adaptés au milieu*.

### 3° Variations morphologiques accompagnant les variations physiologiques.

L'un des cas les plus nets est relatif aux Trypanosomes.

Werbitzky (193) a attiré l'attention sur le fait suivant. Lorsqu'on traite les animaux infectés par les Trypanosomes, avec certaines matières colorantes, notamment de constitution orthoquinodique, les Trypanosomes, en même temps qu'ils deviennent résistants, perdent leur blépharoblaste ou centrosome. Et si la substance en question a agi pendant plusieurs générations, on obtient une souche qui reste cons-

tamment sans blépharoblaste (caractère permanent acquis par la cellule), tandis que les fonctions motrices et la multiplication ne sont pas modifiées. D'autre part, Kudicke (95) a confirmé que, sous l'action des substances du groupe de l'orthoquinoidine et de l'acridine, les Trypanosomes du Nagana chez le Rat perdent aussi leur blépharoblaste, corrélativement avec une augmentation de la résistance vis-à-vis du toxique.

D'autres recherches montrent aussi des variations morphologiques concomitantes avec des variations physiologiques. Ce sont notamment celles de Chauveau et Phisalix (20) sur les modifications du *Bacillus anthracis* par passage dans les vaisseaux lymphatiques, de Revici (145, 146) sur la bactériémie charbonneuse dans les milieux arsenicaux, de Botez (8) sur le Vibron cholérique accoutumé au violet de méthyle, dont certaines modifications morphologiques acquises persistent après retour sur milieu normal.

Il faut remarquer cependant qu'il y a aussi des cas où les modifications physiologiques acquises n'entraînent pas nécessairement des modifications morphologiques des organismes. Bien souvent Ehrlich (46, 48, 50) n'a pas pu en observer chez les races de Trypanosomes devenues résistantes aux poisons. Fabry (54, 55), accoutumant le Bacille coli au phénol, n'a pas vu de variations morphologiques du Bacille modifié physiologiquement. *Avec le ferment lactique, accoutumé ou sensibilisé, nous n'avons pas vu non plus de changements de la forme.*

#### 4<sup>e</sup> Autres exemples d'adaptation.

On peut rapprocher des recherches qui avaient porté sur l'augmentation de résistance des microorganismes vis-à-vis des substances toxiques, certains faits démontrant chez ces mêmes êtres inférieurs l'apparition de caractères physiologiques nouveaux dans le sens d'une adaptation aux conditions extérieures.

En modifiant la composition du milieu nutritif, on constate, dans de multiples cas, des modifications morphologiques et physiologiques.

Pour les questions des variations de la sporulation, de la production des pigments (60, 98) et de la virulence, on trouvera de nombreux travaux exposés chez Pringsheim (140) et dans les traités de microbiologie. Nous ne retiendrons ici, à titre d'exemples, que quelques cas où la variation se présente nettement comme une adaptation aux nouvelles conditions du milieu.

Frankland et Mc Gregor (58) ont cultivé *Bacillus ethacetius* sur glycérate de chaux et observèrent que ce Bacille devenait capable d'attaquer cette substance. D'après les recherches de Mazé (114), certains microorganismes peuvent acquérir par accoutumance la propriété d'utiliser la glycérine, d'autres l'azote ammoniacal (Pringsheim, 139) ou la dicyan diamide (Perotti, 136), etc.

D'assez nombreux travaux montrent que les enzymes peuvent être sécrétés par les cellules microbiennes de façon qualitativement très différente suivant la nature du milieu. On trouvera un exposé assez complet de ces travaux dans Pringsheim (140). Citons parmi les principaux ceux de Wortmann (194), Fernbach (56), Duclaux (30), Bourquelot (9, 10).

On peut se demander si, dans les conditions expérimentales variées, il y a simplement diminution ou exagération des sécrétions diastasiques normales de l'espèce, ou bien si l'on peut, par le choix d'un milieu de culture convenable, provoquer dans ce domaine des sécrétions l'apparition d'un caractère nouveau, c'est-à-dire d'un enzyme qui ne se constate pas normalement chez l'organisme considéré.

Un certain nombre de recherches sont en faveur de cette dernière hypothèse. Par exemple, Dubourg (29) et Dienert (27) ont affirmé qu'on peut accoutumer la levure à faire fermenter le galactose, ce qui est confirmé par les expériences postérieures de Slator (188) et de Harden et Norris (82). Dubourg avait aussi affirmé que des Levures, qui étaient incapables d'attaquer le saccharose habituellement, pouvaient être acclimatées à dédoubler ce sucre. Mais ces résultats ont été contredits par Hansen (79) et par Klöcker (92). D'autre part, Fernbach (57) et Pottevin (138), confirmés par Pringsheim (140), ont pu provoquer chez *Aspergillus* et *Penicillium*

la formation de tannase par culture sur milieu renfermant du tanin. Czapek (24) signale la production d'hadromase chez *Penicillium* cultivé sur bois ; Dean (26), la production d'inulase chez *Aspergillus* et *Penicillium*, cultivés sur milieu à inuline.

Un certain nombre de travaux ont porté aussi sur l'adaptation des organismes inférieurs aux variations de la pression osmotique du milieu : ceux de Raulin (143), de Eschenhagen (53), de Hunger et Errera (52), sur les moisissures, de Richter (181) sur les Algues d'eau douce, de Klebs (91) qui a montré que les Euglènes supportent bien des changements assez amples de la concentration et présentent souvent d'abord des modifications de structure qui disparaissent au bout de quelques jours d'adaptation au nouveau milieu.

Une expérience ancienne de Balbiani (3) montre des faits analogues sur les Infusoires. Plongés dans un milieu renfermant du bromure de potassium, ces Protozoaires présentent des modifications d'aspect, en même temps que leur résistance vis-à-vis du sel se trouve augmentée.

Beaucoup de Bactéries anaérobies, d'après Rosenthal (183), Grassberger (71) et d'autres, peuvent être accoutumées à l'aérobiose.

D'autres Bactéries ont pu s'adapter à des températures anormalement élevées. Avec *Bacillus fluorescens*, la température maximale peut être élevée de 35° à 41°,5 par l'accoutumance (Dieudonné, 28) ; avec *Bacillus subtilis*, de 50° à 57° (Tsiklinsky, 191).

Une curieuse expérience de Mendelssohn (117) sur les Paramécies a montré un déplacement de la température optimale de 24°-28° à 30°-32°, simplement par un séjour de quelques heures des Protozoaires à 36°-38°.

### 5° Variations brusques ou mutations.

Parmi les variations observées chez les microorganismes, il en est, qu'il s'agisse de variations morphologiques ou de variations physiologiques, qui présentent un caractère de brusquerie tel que certains auteurs les ont assimilées aux mutations décrites par de Vries sur les végétaux supérieurs.

Des exemples très nets de ces brusques modifications aboutissant à la constitution de races stables ont été notamment observés depuis longtemps déjà sur les levures. Dans une culture de Levure basse (*Saccharomyces turbidans*), Hansen (77-81) a vu apparaître, d'ailleurs pour des causes non précisées, des cellules possédant et conservant dans leur descendance des caractères de Levure haute, et il a considéré cette transformation comme une mutation au sens de de Vries.

De même, sans cause apparente, les *Schizosaccharomyces Pombe* et *melacei* peuvent présenter des variations brusques et notamment, comme l'a bien vu Lepeschkin (100 bis), l'apparition de formes mycéliennes stables, incapables de se retransformer en cellules ordinaires. Il y a donc eu une modification qualitative des propriétés héréditaires, et l'auteur a aussi rapproché ce phénomène de la mutation.

Lewis Mark (113 bis), en accoutumant le Bacille paratyphique à des quantités croissantes d'acide arsénique, a vu que l'augmentation de la résistance vis-à-vis du poison ne suit pas une progression régulière : la résistance s'établit par une série d'étapes.

M<sup>me</sup> V. Henri (82 bis) a observé la transformation brusque ou mutation de la Bactéridie charbonneuse sous l'action des rayons ultraviolets.

Dans le cas des ferments lactiques, Charles Richet (167) a aussi supposé l'existence de mutations, et il s'agit ici d'une brusque variation des propriétés physiologiques. L'expérience montre en effet parfois que, dans l'accoutumance d'un bacille lactique à un toxique, la résistance vis-à-vis du poison ne s'accroît pas d'une façon progressive et continue en fonction du temps. Cette augmentation de résistance et de vitalité, faible à certaines périodes, devient forte subitement à d'autres ; parfois l'activité biochimique s'accroît brusquement, puis s'abaisse temporairement, puis s'élève de nouveau.

La variation ne semble donc pas continue et graduelle ; elle apparaît dans certains cas — accoutumance à l'arséniate de potasse — décrite par Richet et Cardot (177 bis) — comme un processus discontinu, et procédant par étapes.

On trouve d'ailleurs dans les travaux de microbiologie

d'autres faits permettant de tirer une conclusion analogue.

Ultérieurement Gorini (70), dans ses études sur les propriétés physiologiques des ferments lactiques, a annoncé également l'existence de mutations brusques.

Sans doute peut-on discuter pour savoir si ces mutations sont comparables à celles qui ont été signalées chez les organismes supérieurs. Il ne semble pas cependant que l'emploi du mot *mutation*, dans le cas des microorganismes, soit à rejeter, car *il exprime bien ce fait indéniable qu'une espèce microbienne peut, à certaines périodes, témoigner d'un changement brusque de l'une ou de l'autre de ses propriétés.*

#### 6<sup>e</sup> Hypothèses sur le mécanisme physico-chimique de l'accoutumance.

Nous sommes ici dans le champ des hypothèses, et encore sont-elles fort fragmentaires et relatives à des cas particuliers.

D'après les travaux d'Ehrlich, d'Effront, de Davenport et Neal, de Neuschlosz, de Gimel, de Neuhaus et Pulst, nous pouvons envisager des essais d'explication de deux ordres :

1<sup>o</sup> *Modifications de la perméabilité de la membrane* démontrée par l'expérience de Pulst (141) accoutumant *Penicillium glaucum* au cuivre ;

2<sup>o</sup> *Transformation du poison en une forme inactive ou insoluble, ou bien sa destruction par le travail protoplasmique de la cellule accoutumée, soit par des produits excrétés dans le milieu, soit par des mécanismes encore mal précisés.*

Neuschlosz (128), en accoutumant des Paramécies à des combinaisons de l'arsenic et de l'antimoine trivalents [ $\text{NaAsO}_2$  et  $\text{KSbO}(\text{C}^3\text{H}^4\text{O}^6)$ ] a vu la transformation de ces composés toxiques en combinaisons moins toxiques, où l'arsenic et l'antimoine intervenaient comme éléments pentavalents.

Effront (38-41), dans l'accoutumance des levures à l'acide fluorhydrique, a constaté que cet acide était transformé en fluorure de calcium, insoluble.

D'autre part, le même auteur (44, 45), en faisant végéter la Levure de bière sur des milieux contenant de l'arsenic, a

observé la production par la cellule accoutumée d'une substance annulant l'effet de l'arsenic ; il a obtenu des résultats identiques avec la formaldéhyde. Revici (145, 146) a fait des constatations analogues pour la Bactéridie charbonneuse accoutumée à l'arsenic.

Nos expériences faites avec le ferment lactique et le nitrate de thallium ont donné quelques indications confirmant, semble-t-il, les constatations de ces auteurs.

Dans le cas de l'accoutumance des Trypanosomes, Ehrlich a invoqué une diminution de l'avidité des récepteurs pour le toxique et a montré que les Trypanosomes accoutumés aux composés arsenicaux et aux composés orthoquinoïdiques ne se colorent plus par l'un de ces derniers, qui teint en violet les individus normaux. Mais cette hypothèse, ingénieuse sans doute, n'est pas encore appuyée par une suffisante démonstration pour constituer une base d'explications précises.

D'après Gimel (61), l'accoutumance de la Levure à  $H^2SO_4$  se traduit par une augmentation du pouvoir oxydant des cellules ; par l'accoutumance, le protoplasme est incité à la sécrétion d'une substance oxydante.

Neuschlosz (127) accoutumant *Paramecium caudatum* à des colorants : bleu de méthylène, trypanbleu, fuchsine, a constaté la transformation de la matière colorante toxique en une combinaison incolore et non toxique.

Une autre expérience intéressante du même auteur nous permet de pénétrer un peu dans le mécanisme inconnu de l'accoutumance (126).

Les Paramécies sont très sensibles à l'action de la quinine. L'auteur les accoutume très graduellement par augmentations successives de la concentration du poison, et il parvient à les faire vivre dans des doses incompatibles avec la vie pour des Paramécies normales. La résistance vis-à-vis du poison est énorme chez les individus accoutumés. Cependant l'addition d'une quantité infime d'arsenic brise cette résistance, et la sensibilité vis-à-vis du chlorhydrate de quinine est ainsi rétablie comme chez l'être normal. On sait d'ailleurs que l'arsenic est un poison paralysant le processus de désassimilation, surtout l'oxydation cellulaire.

Dans l'accoutumance des Paramécies au chlorhydrate de quinine, il y a destruction de la quinine par les individus accoutumés ; l'auteur suppose la mise en jeu de ferments de défense.

Si, comme il est vraisemblable, la défense du microorganisme vis-à-vis de certains poisons est en liaison étroite avec des processus d'oxydation, on doit s'attendre à constater, notamment avec les anaérobies facultatifs, comme le Bacille sur lequel nous avons travaillé, des différences assez marquées au point de vue de la résistance et de l'accoutumance aux toxiques, suivant que l'expérience est faite en présence ou en l'absence de l'air. A plusieurs reprises, avec différents toxiques, nous avons cru remarquer *une influence assez nette du rapport de la surface libre au volume du liquide de culture dans l'action toxique de certains sels*. Mais le temps nous a manqué pour étudier systématiquement le facteur en question (1).

---

(1) Nous rappellerons que, sur des organismes supérieurs, tels que les Poissons, nous avons trouvé une influence extrêmement nette de ce rapport de la surface au volume, dans l'intoxication par les sels de cobalt et d'arsenic (*Soc. de biologie*, LXXXIV, 357, 1921).

## CHAPITRE VII

### STABILITÉ DES CARACTÈRES ACQUIS

#### 1<sup>o</sup> Historique.

*Les souches ayant acquis une résistance vis-à-vis des poisons, ou tel autre caractère nouveau en rapport avec une modification du milieu, soit par sélection de germes, soit par une adaptation, soit par le jeu de ces deux processus, peuvent se montrer stables à travers de nombreuses générations, même lorsque l'agent qui a provoqué la variation n'est plus en cause.*

Dans ce dernier cas, on est réellement autorisé à parler de *nouvelles variétés*, de *nouvelles races*.

De cette stabilité, les expériences de Hansen et d'autres sur les levures, de Ehrlich et de différents auteurs sur les Trypanosomes et de nombreux expérimentateurs qui ont travaillé sur les Bactéries pathogènes, les expériences de Richet, nos recherches personnelles et celles de Cardot et Laugier sur le ferment lactique en donnent des preuves multiples.

Dans les expériences de Hansen sur les Levures, on constate qu'à côté des variations fluctuantes n'aboutissant pas à la formation de races stables et revenant à l'état primitif après un certain nombre de générations dans les conditions normales, il y a au contraire dans certains cas des variations durables qui se perpétuent indéfiniment.

Nous rappellerons aussi que, chez les *Mucor*, les modifications provoquées par les vibrations mécaniques dans les expériences de Ray (144) et de Sartory (185) se sont montrées dans certains cas assez durables.

Laveran et Mesnil (99) ont fait passer un grand nombre de fois des Trypanosomes résistants sur les animaux, et la résistance acquise vis-à-vis des médicaments persistait toujours. Mesnil et Brimont (118, 119) ont indiqué aussi des faits

analogues, et Laveran et Roudsky (100) ont constaté aussi cette stabilité chez les races résistantes acétosomiques, après un grand nombre de passages sur l'animal. Ces derniers auteurs ont pu montrer que les nouvelles races créées par l'adaptation sont stables après passage sur 200 à 300 Souris, ce qui équivaut à 2 000 ou 3 000 divisions binaires. Il est vrai que, d'autres fois, il y a retour au type primitif après 10, 20 ou 100 passages.

Une expérience intéressante et importante doit être aussi rapportée en cet endroit. Dans le cas d'un Trypanosome résistant à l'arsénophénylglycine, Gonder (62) a constaté que la résistance disparaît si l'on fait passer le Protozoaire en question sur le Pou. Or c'est dans l'organisme de cet insecte qu'a lieu la reproduction sexuée. Voilà donc un cas extrêmement net où *le phénomène sexuel abolit un caractère qui était resté stable tant que la multiplication asexuée était seule en jeu*. Faut-il en conclure qu'il en serait toujours ainsi et que toutes les variations durables observées chez les microorganismes seraient seulement comparables, par exemple, à celles des variations culturales des plantes supérieures, qui ne peuvent être transmises que par les procédés de multiplication asexuée ? S'il en était ainsi, on n'aurait pas le droit de parler d'une réelle hérédité des caractères acquis. Mais il n'est pas légitime de généraliser d'après un seul cas, si net soit-il, et il conviendrait, avant de trancher la question, de multiplier les expériences sur ceux des microorganismes qui présentent des phénomènes de conjugaison.

En ce qui concerne les variations du ferment lactique, Cardot et Laugier (15, 17) ont montré la grande stabilité des propriétés acquises. Ainsi, chez le bacille adapté aux fortes concentrations de KCl, et remis depuis un an sur milieu normal, ils n'ont pas constaté une diminution importante du caractère acquis.

De même, avec le Bacille coli modifié par l'action du phénol, Fabry (54, 55) a constaté la conservation de la propriété acquise, à savoir la non-production de l'indol après nombreux passages sur milieu normal et même après passage dans le péritoine du Cobaye.

Dans les expériences de Chauveau et Phisalix, rapportées dans le chapitre précédent (20), on n'arrive pas à remodifier le *Bacillus anthracis* après passage dans les vaisseaux lymphatiques pour lui rendre son pouvoir d'immunisation et sa virulence primitifs. Voici donc *une race qui ne revient pas à l'état originel*.

On trouve aussi, bien entendu, dans la littérature des cas où les modifications provoquées n'ont pas subsisté longtemps après suppression du facteur causal. Ainsi Schierbeck (186) ayant, par action du phénol, diminué l'activité fermentative d'un Bacille lactique, a constaté que cette modification n'était pas durable et disparaissait en moins de soixante bipartitions après retour aux conditions normales.

*Un cas de retour complet à l'état normal* est donné entre beaucoup d'autres par la variation du Bacille pyocyanique dans les milieux toxiques, observée par Guignard et Charvin (73). Ces auteurs signalèrent la formation de Bacilles longs et courts, de filaments, de spirales, de Microcoques, mais qui disparaissent tous quand on revient aux conditions normales de vie.

On trouvera aussi pour les microbes pathogènes des exemples de variations culturelles relatives aux réactions d'immunité et revenant au type initial lors du retour sur milieu normal dans Bordet et Sleswyk (7).

Un grand nombre d'exemples d'une non-stabilité de la variation chez les Bactéries peuvent se rencontrer dans la littérature. Il n'en reste pas moins vrai que la stabilité des nouvelles races obtenues par traitement avec un toxique accoutumant ou sensibilisant est démontrée par toute une série d'expériences. Dans celles que nous avons faites, nous avons cherché surtout à mettre en évidence avec des poisons accoutumants et sensibilisants la persistance des modifications acquises par une action toxique d'assez courte durée (173, 174).

## 2° Recherches personnelles.

EXPÉRIENCE I. — Une souche lactique accoutumée pendant vingt-quatre heures à l'arséniate de potasse est remise sur milieu normal, c'est-à-dire sur son milieu d'origine afin de la soustraire à l'influence de l'arsenic. Après

séjour de 1, 9, 15 et 30 jours, sur milieu normal, cette souche estensemencée comparativement avec une souche témoin sur un milieu additionné de  $K^3AsO^4$ ; les résultats sont les suivants :

Si on prend l'acidité de la souche témoin sur milieu arsenical égale à 100, la souche arsenicale donne sur le même milieu 1 jour après le retour sur milieu témoin une acidité de 152, après 9 jours 127, après 15 jours 107, et après 30 jours 110 (fig. 13).

On voit donc que 30 passages sur milieu normal ne suffisent pas pour effacer l'éphémère influence de l'arsenic, qui dura en tout vingt-quatre heures. La résistance accrue à l'arsenic se

100 -----

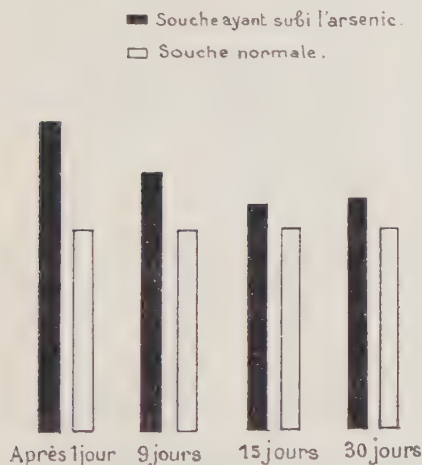


Fig. 13. — Persistance de l'accoutumance déterminée par une intoxication de vingt-quatre heures.

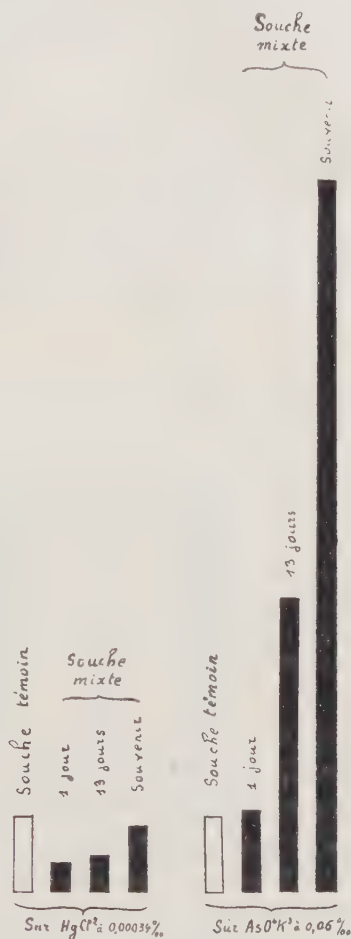


Fig. 14. — Accoutumance et sensibilisation simultanées; persistance après retour sur milieu témoin (rectangles marqués « souvenir »).

transmet de génération en génération même au cours de plusieurs milliers de bipartitions sur milieu normal.

Le phénomène de l'accoutumance ne s'efface que très graduellement, assez vite les quinze premiers jours, puis lentement

ensuite, en sorte qu'au bout d'un mois il y a encore trace de la modification qui a été acquise et héréditairement transmise.

Nous avons cherché si une souche ayant subi l'influence de deux poisons, un sensibilisant, l'autre accoutumant, remise sur milieu normal, transmettait aux générations suivantes la double modification biologique acquise.

EXPÉRIENCE II. — Après quinze jours de culture sur un milieu additionné de  $K^3AsO^4$  à 0,04 p. 1 000 et  $HgCl^2$  et 0,0002 p. 1 000, la souche ainsi intoxiquée est remise pendant quatre jours sur un milieu normal. Au bout de ce temps, cette souche ainsi qu'une souche normale sont ensemencées parallèlement sur milieu arsenical et sur milieu mercurique. Le dosage est fait après vingt heures d'étuve ; une souche témoin sur milieu normal développant en ce temps une acidité de 7,6, on a trouvé pour les autres cultures les nombres suivants :

|                                            | Souche témoin. | Souche mixte. |
|--------------------------------------------|----------------|---------------|
| Sur $HgCl^2$ à 0,000 34 p. 1 000 . . . . . | 6,5            | 5,6           |
| Sur $K^3AsO^4$ à 0,06 p. 1 000 . . . . .   | 0,53           | 5,0           |

Autrement dit, si la souche témoin donne sur milieu mercurique une acidité de 100, la souche mixte, remise sur milieu normal, donne seulement une acidité de 86 ; si la souche témoin donne 100 sur milieu arsenical, la souche mixte donne 940. L'accoutumance à l'arsenic a été intégralement conservée ; elle est même plus marquée qu'au bout de treize jours d'action permanente du milieu toxique ; la sensibilisation pour le mercure est un peu moins marquée qu'à la fin de l'action permanente, mais elle est indéniable.

Ici encore, après de nombreuses générations sur milieu normal, la cellule microbienne garde l'empreinte antérieurement acquise : elle est accoutumée à l'arsenic et sensibilisée au bichlorure de mercure (Voir fig. 14).

Un ferment lactique ayant subi pendant un passage de quarante-huit heures l'influence de trois toxiques transmettra-t-il aussi ses nouvelles propriétés physiologiques à sa descendance ?

EXPÉRIENCE III. — Elle a été faite avec le sulfate de cuivre, le sulfate de cadmium et l'arséniate de potasse. Sur un milieu de culture additionné de  $CdSO^4$  à 0,1 p. 1 000, de  $CuSO^4$  à 0,0075 p. 1 000 et de  $K^3AsO^4$  à 0,05 p. 1 000, le ferment a végété pendant quarante-huit heures, puis on l'a remis sur milieu normal, et la culture sur ce milieu normal a duré sept jours. Comme dans les deux expériences antérieures, cette souche ainsi qu'une souche témoin ont été ensemencées toutes deux sur milieux cuivrique, arsenical ou cadmique. Le

dosage est fait en partie après dix-huit heures, en partie après quarante-deux heures, et les résultats peuvent s'exprimer en p. 100 des fermentations témoins correspondantes :

|                                          | Souche témoin.  | Souche mixte.    |
|------------------------------------------|-----------------|------------------|
| Sur milieu témoin (18 h.).....           | 27,6            | »                |
| — (42 h.).....                           | 28,9            | »                |
| Sur $K^3AsO^4$ à 0,075 p. 1 000 (18 h.). | 7,2 (26 p. 100) | 10,0 (36 p. 100) |
| — à 0,1 p. 1 000 (18 h.).                | 0,9 (3 — )      | 2,8 (10 — )      |
| Sur $CdSO^4$ à 0,25 p. 1 000 (18 h.).    | 9,9 (35 — )     | 16,9 (61 — )     |
| — à 0,5 p. 1 000 (18 h.).                | 0               | 3,4 (12 — )      |
| Sur $CuSO^4$ à 0,05 p. 1 000 (42 h.).    | 22,4 (77 — )    | 13,9 (48 — )     |

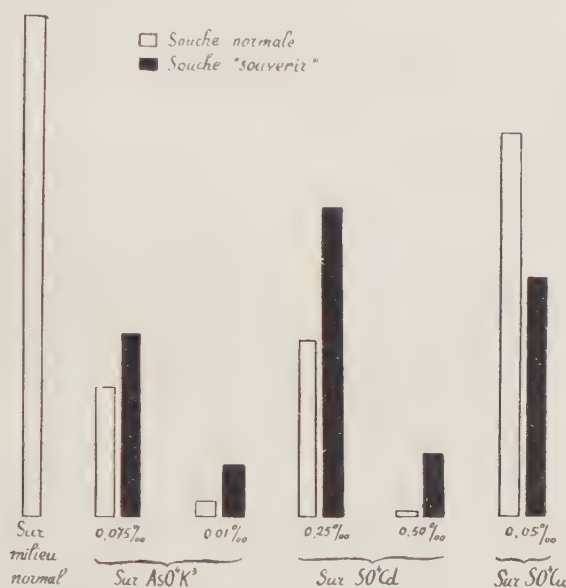


Fig. 15. — Persistance de l'accoutumance et de la sensibilisation simultanées après retour sur milieu normal (souche témoin : rectangles blancs ; — souche ayant subi l'action des trois toxiques : rectangles noirs).

De fait, la souche qui avait subi l'action des trois toxiques a conservé ses propriétés acquises (fig. 15).

## CONCLUSIONS

*La cellule microbienne n'est pas seulement une entité morphologique, mais aussi une individualité physiologique.*

Par nos recherches, nous avons pu démontrer que la cellule s'accoutume dans certains cas très aisément à des poisons de diverses catégories. Dans d'autres cas, elle se sensibilise au toxique.

*La nature du poison, sa dose et la durée de l'intoxication déterminent tantôt l'accoutumance, tantôt la sensibilisation.*

*L'état de l'activité cellulaire, lorsqu'on fait agir le toxique, intervient aussi d'une façon très importante dans la variation de la résistance. L'état de vie ralentie est défavorable pour la cellule : un poison à dose inoffensive à l'état de pleine activité cellulaire finit par tuer à la même dose la cellule en état de vie ralentie.*

En ce qui concerne l'augmentation de la résistance, on peut dire, en première approximation, qu'elle est *spécifique*, c'est-à-dire qu'en utilisant des poisons appartenant à des familles chimiques différentes, comme nous l'avons fait, on voit que la cellule n'est accoutumée qu'au poison dont elle a subi l'action.

Toutefois, en examinant l'ensemble des faits relatifs à l'accoutumance des microorganismes, aux toxiques, il faut conclure à une *spécificité relative* ; une cellule accoutumée à un poison peut l'être aussi à d'autres chimiquement voisins.

Nos études sur les variations produites par l'action simultanée de plusieurs poisons ont prouvé en toute netteté l'acquisition dans certains cas de deux, dans d'autres cas de trois et même, dans d'autres cas, d'un plus grand nombre de caractères.

Ces nouveaux caractères s'expriment de deux manières différentes :

1<sup>o</sup> *Il peut y avoir une augmentation de la résistance pour tous les poisons agissant simultanément;*

2<sup>o</sup> *Il peut y avoir augmentation de résistance pour certains d'entre eux, avec une diminution de la résistance pour les autres.*

*Le nombre des caractères nouveaux qu'on peut donner à la cellule nous semble être très grand.*

*L'ensemble des réactions de la cellule est très complexe.*

*Elle peut donc acquérir un ou plusieurs caractères nouveaux, qui se transmettent dans la descendance. Ces nouveaux caractères acquis sont indépendants les uns des autres dans une large mesure et peuvent être en apparence contradictoires : accoutumance et sensibilisation vis-à-vis des poisons.*

On a l'impression que chaque poison n'influence qu'une ou qu'un petit nombre des multiples réactions qui s'accomplissent dans la matière vivante, et que les actions exercées par les différents toxiques peuvent s'accomplir simultanément sans interférer.

De sorte que la cellule nous paraît constituée par un nombre très grand de fonctions nettement séparées.

*Les nouvelles races qui se constituent dans les milieux nouveaux sont le résultat tantôt d'une sélection, tantôt d'une variation indéniable du patrimoine héréditaire du protoplasme sous l'action du milieu.*

Dans bien des cas, *les variations acquises sont stables*; autrement dit, elles sont conservées, quand on soustrait les microbes à l'action du poison et qu'on les remet sur un milieu normal.

D'autre part, dans nos expériences, nous avons pu constater qu'un microbe ayant subi l'influence d'un ou plusieurs poisons pendant une très courte période en conserve nettement l'empreinte pendant de nombreuses générations lorsqu'il est soustrait à l'action toxique. Ainsi l'état physiologique d'un microbe ayant subi une intoxication ne sera plus jamais rigoureusement semblable à celui d'un microbe qui n'a pas subi l'action du poison.

---

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

---

Nous nous sommes efforcée de réunir autant que possible ici les travaux relatifs à la variation des microorganismes sous l'influence des conditions expérimentales. Nos recherches personnelles faites sur le Bacille lactique nous ayant entraînée à exposer brièvement les caractéristiques les plus importantes de la fermentation lactique, nous avons cru bon de faire figurer aussi dans notre Index les indications essentielles sur l'étude de cette question.

1. BACHRACH (E.) et CARDOT (H.). — Action des acides sur la marche de la fermentation lactique (*Soc. de biologie*, LXXXVI, 585, 1922).
2. — Influence de l'acidité initiale et de la concentration du milieu sur la marche de la fermentation lactique (*Soc. de biologie*, LXXXVI, 1127, 1922).
3. BALBIANI. — *Archives d'anatomie microscopique*, 1898.
4. BEIJERINCK. — Sur les ferments lactiques de l'industrie (*Arch. néerland. Sc. ex. et nat.*, VI, 212-243, 1901).
5. — Fermentation lactique dans le lait (*ibid.*, 1907, p. 357).
6. BLARINGHEM (L.). — Les transformations brusques des êtres vivants (*Bibl. philos. sc.*, 1 vol., 353 p., Flammarion, 1911).
- 6 bis. BOHN (GEORGES) et DRZEWINA (ANNA). — La chimie et la vie, Flammarion.
7. BORDET (J.) et SLEESWYK. — Séro-diagnostic et variabilité des microbes suivant le milieu de culture (*Ann. Inst. Pasteur*, XXIV, 476-494, 1910).
8. BOTEZ (M.-A.). — Adaptation microbienne par variation et sélection (*Soc. de biologie*, LXXXVII, 817, 1922).
9. BOURQUELOT. — Remarques sur les ferments solubles sécrétés par l'*Aspergillus niger* et le *Penicillium glaucum* (*Soc. de biologie*, XLV, 653, 1893).
10. — Les ferments solubles de l'*Aspergillus niger* (*Bull. Soc. mycol. France*, IX, 230, 1893).
11. BREINL et NIERENSTEIN. — *Deutsch. med. Wochenschr.*, 1908, n° 27, p. 1181.
12. BUCHNER (E.) et MEISENHEIMER (J.). — Ueber die Milchsäuregärung (*Liebig's Ann.*, CCCXLIV, 125-139, 1906).
13. CARDOT (H.). — Sur les irrégularités des ferments lactiques. Quelques remarques sur les critiques de M. A. Lumière (*Ann. Inst. Pasteur*, XXXVII, 988-996, 1923).
- 13 bis. CARDOT (C. et H.). — Analogie entre les ferments lactiques et les Streptocoques au point de vue de l'action des antiseptiques (*C. R. Ac. Sc.*, CLXV, 272, 1917).

14. CARDOT (HENRY) et LAUGIER (HENRI). — Action des fortes concentrations salines sur le Bacille lactique (*Soc. de biologie*, LXXXVI, 108, 1922).
15. — Modifications du Bacille lactique sous l'influence des fortes concentrations salines. Stabilité des variations acquises sous l'action du chlorure de potassium (*Journ. phys. et path. gén.*, XXI, 54-69, 1923).
16. — Adaptation, transmission des caractères acquis, sélection par concurrence vitale chez le ferment lactique (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXVI, 1087, 1923).
17. — Contribution à l'étude de l'accoutumance et de la sélection chez les microbes (*Ann. physiol. et Physicochimie biol.*, sous presse).
18. CARDOT (HENRY) et RICHET (CHARLES). — Hérité, accoutumance et variabilité dans la fermentation lactique (*Ann. Inst. Pasteur*, XXXIII, 575-615, 1919).
19. CHASSEVANT (A.). — Action des sels métalliques sur la fermentation lactique (*Thèse Fac. Méd. Paris*, 1897, et *Trav. lab. Charles Richet*, VI, 264-297, 1898).
20. CHAUVEAU et PHISALIX. — *C. R. Ac. Sc.*, CXX, 801, 1895.
21. COSTANTIN (J.). — Végétaux et milieux cosmiques (*Bibl. scient. intern.*, Paris, Alcan).
22. — L'hérédité acquise. Ses conséquences horticoles, agricoles et médicales (*Collection Scientia*, 1 vol., 86 p., Gauthiers-Villars, 1901).
23. CUÉNOT (L.). — La genèse des espèces animales (*Bibl. scient. intern.*, 1 vol., 558 p., Alcan, 1921).
24. CZAPEK. — *Ber. d. deutsch. Chem. Gesellsch.*, XVII, 166, 1899. Cité d'après Pringsheim.
25. DAVENPORT et NEAL. — *Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen*, II, 564, 1896.
26. DEAN. — *Biochem. Centralbl.*, I, 320.
27. DIENERT. — Sur la fermentation de la galactose et l'accoutumance des levures à ce sucre (*Ann. Inst. Pasteur*, XIV, 1900, et *C. R. Ac. Sc.*, CXXVIII, 569, 1899).
28. DIEUDONNÉ. — Neuere Beiträge zur Kenntniss der Biologie der Bakterien (*Biol. Centralbl.*, XV, 103, 1895).
29. DUBOURG (E.). — De la fermentation des disaccharides (*C. R. Ac. Sc.*, CXXVIII, 440, 1899).
30. DUCLAUX (E.). — Traité de microbiologie, II, 84, 1899.
31. — *Ibid.*, IV, 1902 (Fermentation lactique, p. 311 à 373).
32. DUTHOIT (A.). — De l'action sur différents microbes du chlorure de sodium à 9 p. 1 000 (*Soc. de biologie*, LXXXIX, 548, 1923).
33. — Action, sur différents microbes, du chlorure de sodium à divers taux de concentration (*Soc. de biologie*, LXXXIX, 550, 1923).
34. — De l'action sur différents microbes du chlorure de sodium seul ou associé à d'autres sels (*Soc. de biologie*, LXXXIX, 553, 1923).
35. EFFRONT (J.). — Action des acides minéraux sur le ferment lactique et le ferment butyrique (*Bull. Soc. Chim.*, 3<sup>e</sup> série, IV, 337-339, 1890).
36. — *C. R. Ac. Sc.*, CXIX, 169, 1894.
37. — *Moniteur scientifique Quesneville*, VIII, 561, 1894.
38. — Influence de l'acide fluorhydrique et des fluorures sur l'activité de la levure (*Bull. Soc. Chim.*, 3<sup>e</sup> série, V, 476, 1891).

39. EFFRONT (J.). — Influence des fluorures sur l'accroissement de la levure (*Ibid.*, V, 731-734, 1891).
40. — Action de l'acide fluorhydrique et des fluorures dans la fermentation des matières amylacées (*Ibid.*, V, 734-740, 1891).
41. — L'influence de l'acide fluorhydrique et des fluorures sur les levures de bière (*C. R. Ac. Sc.*, CXVII, 1893 et CXVIII, 1894).
42. — *Moniteur scientifique Quesneville*, VII, 254, 1893 ; VIII, 1138, 1894 et XIX, 19, 1905.
43. — Étude sur le levain lactique (*Ann. Inst. Pasteur*, X, 524-544, 1896).
44. — L'acclimatation de la levure de bière à l'arsenic (*Soc. de biologie*, LXXXIII, 806, 1920).
45. — Sur le mécanisme de l'acclimatation des microorganismes aux substances toxiques (*Soc. de biologie*, LXXXIII, 807, 1920).
46. EHRLICH (P.). — *Beiträge zur experimentelle Pathologie und Chemotherapie*, Leipzig, 1909.
47. — Ueber den jetzigen Stand der Chemotherapie (*Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft*, LXII, 17, 1909).
48. — *Aus Theorie und Praxis der Chemotherapie*, Leipzig, Klinkhardt 1911.
49. — *Berlin klin. Wochenschr.*, 1907.
50. EHRLICH (P.) et GONDER. — *Experimentelle Chemotherapie (Prowazec's Handbuch d. pathogenen Protozoen*, Leipzig, 1914).
51. EHRLICH (P.) et RÖHL. — Voir RÖHL.
52. ERRERA. — Hérité d'un caractère acquis chez un Champignon d'après les expériences de M. Hunger (*Bull. Acad. Roy. de Belgique*, 1899, p. 81).
53. ESCHENHAGEN. — Ueber den Einfluss von Lösungen verschiedener Concentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen (*Dissert., Leipzig*, 1889).
54. FABRY (PAUL). — Modifications biologiques du *B. coli* en milieux phéniqués (*Soc. de biologie*, LXXXV, 884, 1921).
55. — Étude de l'agglutination du *B. coli* modifié par le phénol (*ibid.*, LXXXV, 886, 1921).
56. FERNBACH. — *Annales Inst. Pasteur*, III, 473 et 531, 1889, et IV, 641, 1890.
57. — *C. R. Ac. Sc.*, CXXXI, 1214, 1900.
58. FRANKLAND et MAC GREGOR. — *Trans. of the chem. Soc.*, LIX, 81, 1891.
59. FULMER (E.-J.). — The acclimatization of yeast to ammonium fluoride and its reversion in wort (*Journ. physical Chem.*, XXV, 455, 1921).
60. GESSARD (C.). — Des races du bacille pyocyanique (*Ann. Inst. Pasteur*, V, 65-78, 1891).
61. GIMEL. — *Bull. Assoc. chimie, sucrerie et dist.*, XXIII, 669, 1905.
62. GONDER (RICHARD). — Untersuchungen über arzneifeste Mikroorganismen (*Centralbl. f. Bakt.*, LXI, 102, 1912).
63. GORINI (COSTANTINO). — Sopra una nuova classe di bacteri coagulanti del latte (*Giorn. Soc. Ital. Igiene*, XVI, 15 p., 1894).
64. — Sur les bactéries lactiques productrices de présure et d'acide (*Revue gén. du lait*, I, n° 8, 7 p., 1902).
65. — Sur un ferment lactique filant (*Bacillus casei filans*) (*ibid.*, IX, n° 45, 1913).
66. — Contribution à la différenciation des ferments lactiques (*ibid.*, IX, n° 19, 1913).

67. GORINI (COSTANTINO). — Sulla termoresistenza di batteri non sporigeni nel latte (*Reale Instit. lombardo di Sc. e lett.*, XLVIII, 956-961, 1915).
68. — Ricerche sulla virulenza dei fermenti lattici contenuti nelle dejezioni delle vacche (*ibid.*, XLIII, 777-780, 1910).
69. — Ulteriori ricerche sull'attività dei fermenti lattici. I. L'influenza della temperatura (*Rendiconti Acc. dei Lincei*, XXIV, 369-376, 1915); II. L'influenza della substrato (*ibid.*, XXIV, 470-475, 1915); III. L'influenza del modo di sterilizzazione del latte (*ibid.*, XXVI, 195-199, 1917); IV. La lattocultura nella selezione dei fermenti latticoproteolitici (*ibid.*, XXVI, 223-227, 1917).
70. — Mutations brusques chez les ferments lactiques par divergences individuelles (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXII, 1382, 1921).
71. GRASSBERGER. — Ueber Anpassung und Vererbung bei Bakterien. Zugleich ein Beitrag zu Aerobiose anaerober Bakterien (*Archiv. f. Hygien*, LIII, 158, 1905).
72. GRATIA (A.). — Le problème des variations microbiennes (*Soc. roy. des Sc. méd. et nat. Bruxelles*, 3 mars 1924).
73. GUIGNARD et CHARRIN. — *C. R. Ac. Sc.*, CV, 1192, 1887.
74. GUILLIERMOND (ALEXANDRE). — Les Levures (1 vol. *Encycl. scient.*, 565 p., Doin, 1912). Exposé étendu des connaissances sur les Levures alcooliques avec index bibliographique très complet.
75. GUNN (J.-A.). — Cellular immunity: congenital and acquired tolerance to non-protein substances (*Physiological Reviews*, III, 41-74, 1923).
76. HAFKINE (W.-M.). — Recherches sur l'adaptation au milieu chez les Infusoires et les Bactéries. Contribution à l'étude de l'immunité (*Ann. Inst. Pasteur*, IV, 363-379, 1890).
77. HANSEN (EMIL CHR.). — Experimental studies on the variation of yeast cells (*Annals of Botany*, IX, 1895).
78. — Ueber die Variation bei de Bierhefepilzen und bei anderen Saccharomyceten (*Zeitschr. f. d. ges. Brauw*, XXI, 1898).
79. — Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques (*C. R. laboratoire de Carlsberg*, I, 1881 et 1883; II, 1886 et 1888; III, 1891; IV, 1898; V, 1900 et 1902; VII, 1908).
80. — Oberhefe und Unterhefe (*Centralbl. f. Bakt.*, XV, 353, 1905).
81. — Studien über Variationen und Erbllichkeit (*Centralbl. f. Bakt.*, XVIII, 577-586, 1907).
82. HARDEN (A.) et NORRIS (R.). — The fermentation of galactose by yeast and yeast juice (*Proc. Roy. Soc.*, LXXXII, 1910).
- 82 bis. HENRI (M<sup>me</sup> VICTOR). — Étude de l'action métabiotique des rayons ultraviolets. Production de formes de mutation de la bactérie charbonneuse (*C. R. Ac. Sc.*, CLVIII, 1032, 1914).
83. HÉRISSEY (H.). — Fermentation lactique (*Dict. Physiol. Richet*, IX, 779-800, 1913).
84. HERZOG (R.-O.). — Ueber Milchsäuregährung (*Zeitschr. f. physiol. Chem.*, XXXVII, 381-382, 1903).
85. IWANOFF (K.-S.). — Ueber die Wirkung einiger Metallsalze und einatomiger Alkohole auf die Entwicklung von Schimmelpilzen (*Centralbl. f. Bakt.*, XIII).

86. JACQUEMIN. — *Zeitschr. f. Spiritusindustrie*, 1905, p. 451, cité d'après Pringsheim.
87. KAYSER (E.). — Études sur la fermentation lactique (*Ann. Inst. Pasteur*, VIII, 737-785, 1894).
88. — Contribution à l'étude de la fermentation lactique (*Ann. Brasserie, et Dist.*, VIII, 5-7, 1905, et *Ann. Inst. agron.*, III, 241-276, 1904).
89. — Microbiologie appliquée à la transformation des produits agricoles (*Encycl. agricole*, 1 vol., 390 p., Baillièrre, 1921).
90. — Microbiologie appliquée à la fertilisation du sol (*Encycl. agricole*, 1 vol., 325 p., Baillièrre, 1921).
91. KLEBS (G.). — Organisation einiger Flagellaten und ihre Beziehung zu Algen und Infusorien (*Untersuch. aus dem botanischen Inst. Tübingen*, I, 268, 1885) cité d'après Pringsheim.
92. KLÖCKER (A.). — La formation des enzymes dans les ferments alcooliques peut-elle servir à caractériser l'espèce? (*C. R. laboratoire de Carlsberg*, V, 59, 1900).
93. — *Centralbl. f. Bakt.*, VI, 24, 1900.
94. KOSSIAKOFF. — De la propriété que possèdent les microbes de s'accommoder aux milieux antiseptiques (*Ann. Inst. Pasteur*, I, 1887).
95. KUDICKE (R.). — Beiträge zur Biologie der Trypanosomen (*Centralbl. f. Bakt.*, LXI, 113, 1912).
96. LASSABLIÈRE (P.) et RICHET (Ch.). — Aotien du sulfure de calcium phosphorescent sur la fermentation lactique (*Travaux du lab. Charles Richet*, VI, 19-73, 1909).
97. LAURENT. — *Mém. Soc. belge de Microscopie*, XIV, 77 et 87, 1890).
98. LAURENT (Ém.). — Étude sur la variabilité du bacille rouge de Kiel (*Ann. Inst. Pasteur*, IV, 465-483, 1890).
99. LAVERAN (A.) et MESNIL (F.). — Trypanosomes et trypanosomiasés, Paris, Masson, 1912. Importante mise au point des questions relatives aux Trypanosomes, avec bibliographie copieuse.
100. LAVERAN et ROUDSKY. — *C. R. Ac. Sc.*, CLIII, 24 juillet et 13 novembre 1911.
- 100 bis. LEPESCKIN (W.). — Zur Kenntniss der Erbllichkeit bei den einzelligen Organismen (*Centralbl. f. Bakt.*, X, 2, 1903).
101. LEVADITI (C.). — Mécanisme d'action des composés arsenicaux dans les trypanosomiasés (*Soc. de biologie*, LVI, 33, 1909).
102. — A propos du mécanisme d'action de l'atoxyl dans les trypanosomiasés (*Soc. de biologie*, LVI, 492, 1909).
103. — Le mécanisme d'action des dérivés arsenicaux dans les trypanosomiasés (*Ann. Inst. Pasteur*, XXIII, 604-643, 1909).
104. LEVADITI (C.) et MCINTOSH (J.). — Le mécanisme de la transformation de l'atoxyl en trypanotoxyl (*Soc. de biologie*, LVIII, 444 et 569, 1910).
105. LEVADITI (C.) et TWORT (C.). — Mécanisme de la création des variétés de Trypanosomes toxo-résistants (*Soc. de biologie*, LXX, 1024, 1911).
106. — Considérations biologiques sur la toxo-résistance des Trypanosomes (*ibid.*, LXX, 127, 1911).
107. LÖHNIS (F.). — Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien (*Centralbl. f. Bakt.*, XVIII, 97-147, 1911).

108. LÖHNIS (F.). — Zur Kenntniss der in Milch und Molkereiproduktus vorkommen den Bakterien (*Centralbl. f. Bakt.*, XXIX, 331-340, 1911).
109. LUMIÈRE (AUGUSTE). — Contribution à l'étude de la fermentation lactique et des propriétés des microbes (*Ann. Inst. Pasteur*, XXXVII, 967-987, 1923).
110. — Sur la régularité de la fermentation lactique (*Ann. Inst. Pasteur*, XXXVII, 997-999, 1923).
111. — A propos des irrégularités de la fermentation lactique en présence de certains antiseptiques (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXVIII, 258, 1924).
- 111 bis. — Sur la variabilité de la fermentation lactique (*Ann. Inst. Pasteur*, XXXVIII, 344-357; 1924). Nous ne pouvons que signaler ici ce mémoire paru pendant l'impression de notre travail. Il est le développement des arguments de la note précédente.
112. MACÉ (E.). — Traité pratique de bactériologie, 2 vol., 6<sup>e</sup> édition, 1912.
113. MANOILOW (E.). — Ueber die Wirkung der Nickelsalze auf Mikroorganismen (*Centralbl. f. Bakt.*, XVIII, 199-211, 1907). Ce mémoire contient, une bibliographie très étendue relative aux actions toxiques.
- 113 bis. MARK (LEWIS H.). — Ueber einen arsenfesten Bakterienstamm (*Zeits. f. Immunitätsf. u. exp. Ther.*, VI, 293-298, 1910).
114. MAZÉ. — *C. R. Ac. Sc.*, CXXXIV, 240, 1902.
115. — Technique fromagère. Théorie et pratique (*Ann. Inst. Pasteur*, XXIV, 395-428, 435-466 et 543-562, 1910).
116. MEISSNER (CURT). — Akkomodationsfähigkeit einiger Schimmelpilze (*Dissert. Leipzig*, 1902).
117. MENDELSSOHN. — Ueber den Thermotropismus einzelliger organismen (*Arch. ges. physiol.*, LX; 1895). Voir aussi *Journ. physiol. et path. gén.*, IV, 393, 1902.
118. MESNIL (F.) et BRIMONT (E.). — Sur les propriétés de races de Trypanosomes résistantes à l'atoxyl et aux sérums (*Soc. de biologie*, LXIV, 637, 1908).
119. — Sur une race de Trypanosomes résistante à l'émétique et sur l'évaluation *in vitro* de sa résistance (*Soc. de biologie*, LXIV, 820, 1908).
120. MEYER (H.). — Ueber das Milchsäureferment und sein Verhalten gegen Antiseptica (Dorpat, 1880).
121. MITCHELL (CHARLOTTE) et RICHET (CHARLES). — De l'accoutumance des ferments aux milieux toxiques (*Soc. de biologie*, LII, 637-639, 1900).
122. MOORE, NIERENSTEIN et TODD. — *Ann. of trop. med. and. parasitol.* III, 1908. Cité d'après Laveran et Mesnil.
123. MORGENROTH et ROSENTHAL. — Experimentell-therapeutische Studien bei Trypanosomeninfektionen (*Zeits. f. Hygien.*, LXVIII, 506-534 1911).
124. NATHAN (LEOPOLD) et SCHMIDT (A.). — Ueber den Einfluss der Metalle auf gärende Flüssigkeiten (*Centralbl. f. Bakt.*, XIV).
125. NEUHAUS. — *Arch. int. de pharm. et thérapie*, XX, 393, 1910.
126. NEUSCHLOSZ (S.-M.). — Untersuchungen über die Gewöhnung an Gifte. I. Das Wesen der Chininfestigkeit bei Protozoen (*Arch. ges. Physiol.*, CLXXVI, 223-235, 1919).
127. — Untersuchungen über die Gewöhnung an Gifte. Die Festigkeit der

- Protozoen gegen Farbstoffe. II. (*Arch. ges. Physiol.*, CLXXVIII, 61-68, 1920).
128. — Untersuchungen über die Gewöhnung an Gifte. Das Wesen der Festigung von Protozoen gegen Arsen und Antimon (*Arch. ges. Physiol.*, CLXXVIII, 68-79, 1920).
129. OSTERHOUT (W. J. V.). — On the importance of physiologically balanced solutions for plants. I. Marine plants (*Botanical Gazette*, XLII, 127, 1906); II. Fresh-water and terrestrial plants (*ibid.*, XLIV, 259, 1907).
130. — The antagonistic action of Mg and K. (*ibid.*, XLV, 117, 1908).
131. — The nature of balanced solutions (*ibid.*, XLVII, 148, 1909).
132. — Quantitative criteria of antagonism (*ibid.*, LVIII, 272, 1914).
133. — The measurement of antagonism (*ibid.*, LVIII, 1914).
134. PASTEUR (L.). — Mémoire sur la fermentation appelée lactique (*C. R. Ac. Sc.*, XL, 913, 1857, et *Ann. chim. et physique*, LII, 404 et 418, 1858).
135. PÉRÉ (A.). — Mécanisme de la combustion des corps ternaires par un groupe de microbes aérobies (*Ann. Inst. Pasteur*, X, 417-448, 1896). Cet auteur a noté l'accoutumance au formol.
136. PEROTTI (RENATO). — Ueber die Dicyandiadmibakterien (*Centralbl. f. Bakt.*, XXI, 200-231, 1908).
137. POTTEVIN (H.). — Contribution à l'étude de la fermentation lactique (*Ann. Inst. Pasteur*, XII, 49-62, 1898).
138. — La tannase, diastase dédoublant l'acide gallo-tannique (*C. R. Ac. Sc.*, CXXXI, 1215, 1900).
139. PRINGSHEIM (HANS). — Ueber die sogenannte « Bios-Frage » und die Gewöhnung der Hefe an gezuckerte Mineralsalznährlösungen (*Centralbl. f. Bakt.*, XVI, 111-119, 1906).
140. — Die Variabilität niederer Organismen. Eine deszendenz-theoretische Studie (1 vol. 216 p., Springer, Berlin, 1910). Importante source bibliographique à consulter.
141. PULST. — *Jahrbuch f. wiss. Botan.*, XXXVII, 205, 1902.
142. RABAUD (E.). — Le transformisme et l'expérience (1 vol., 315 p., *Nouvelle Coll. scient.*, Alcan, 1911).
143. RAULIN. — Études chimiques sur la végétation (*Ann. Sc. nat.*, 5<sup>e</sup> série, II, 277, 1869).
144. RAY (J.). — Variations des Champignons inférieurs sous l'influence du milieu (*Revue gén. Botan.*, IX, 1897 et *Thèse sc. Paris*, 68 p., 1897).
145. REVICI (EM.). — Sur la culture de la Bactéridie charbonneuse dans des milieux à l'arsenic (*Soc. de biologie*, LXXXVII, 734, 1922).
146. — Sur les modifications morphologiques de la Bactéridie charbonneuse cultivée dans les milieux à l'arsenic (*Soc. de biologie*, LXXXVII, 736, 1922).
147. RICHET (CHARLES). — De la fermentation lactique du sucre de lait (*C. R. Ac. Sc.*, LXXXVI, 550, 1878).
148. — De quelques conditions de la fermentation lactique (*C. R. Ac. Sc.*, LXXXVIII, 759, 1878).
149. — De l'action de quelques sels métalliques sur la fermentation lactique (*C. R. Ac. Sc.*, CXIV, 1494, 1892).
150. — Action physiologique comparée des métaux alcalins (*Trav. laboratoire Ch. Richet*, II, 398-493, Alcan, 1893).

151. RICHET (CHARLES). — Des doses accélérantes des sels de magnésium dans la fermentation lactique (*Soc. de biologie*, LIV, 1436, 1902).
152. — De la loi biologique qui gouverne la toxicité des corps simples (*Soc. de biologie*, LXIX, 433-435, 1910, et *Trav. laboratoire Ch. Richet*, VII, 248-265, Alcan, 1917).
153. — Études sur la fermentation lactique ; II. Effets de la fluoréscence sur la fermentation lactique (*Soc. de biologie*, LVI, 219-221, 1904).
154. — Sur une combinaison de l'acide lactique avec la caséine dans la fermentation lactique (*Soc. de biologie*, LX, 650, 1906).
155. — Influence de l'émanation du radium sur la fermentation lactique (*Arch. intern. physiol.*, III, 130-152, 1905).
156. — De l'action de doses minuscules de substance sur la fermentation lactique (*Arch. intern. physiol.*, III, 203-217, 1905, et *Soc. de biologie*, LVIII, 981, 1905).
157. — De l'action de doses minuscules de substance sur la fermentation lactique. Action du chlorure de baryum (*Arch. intern. physiol.*, III, 264-281, 1905).
158. — Ueber die Wirkung schwacher Dosen auf physiologische Vorgänge auf die Gärungen im besonderen (*Biochem. Zeitschr.*, XI, 273-280, 1908).
159. — Études sur la fermentation lactique. Influence de la surface libre sur la marche de la fermentation (*Soc. de biologie*, LVII, 957-960, 1905, et *Trav. laboratoire Ch. Richet*, VI, 490-493, 1909).
160. — De l'action des doses minuscules de substance sur la fermentation lactique (*Trav. laboratoire Ch. Richet*, VI, 294-372, 1909).
161. — Immunité (*Dictionnaire de physiologie Ch. Richet*, IX, 3-57, 1913).
162. — L'accoutumance du ferment lactique aux poisons (bromure de potassium). Étude de mésologie (*Rev. gén. Botan.*, XXV bis, 583-590, 1914).
163. — L'accoutumance héréditaire aux toxiques dans les organismes inférieurs (ferment lactique) (*C. R. Ac. Sc.*, CLVIII, 764, 1914, et *Trav. laboratoire Ch. Richet*, VII, 443-450, 1917).
164. — Adaptation des microbes (ferment lactique) au milieu (*Ann. Inst. Pasteur*, XXIX, 22-55, 1915).
165. — L'Anaphylaxie (1 vol., 2<sup>e</sup> édit., Alcan, 1923).
166. — De l'emploi alternant des antiseptiques (*C. R. Ac. Sc.*, CLXIII, 589, 1916).
167. — La fermentation lactique et les sels de thallium. Étude sur l'hérédité (*Ann. Inst. Pasteur*, XXXI, 51-60, 1917).
168. — De la physiologie générale cellulaire étudiée par la fermentation lactique (*Arch. intern. physiol.*, XVIII, 13 p., 1921).
169. — Antiseptiques réguliers et irréguliers (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXVII, 1262, 1923).
170. RICHET (CHARLES), BACHRACH (EUDOXIE) et CARDOT (HENRY). — Les phénomènes d'anaphylaxie chez les microbes (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXII, 512, 1921).
171. — Les alternances entre l'accoutumance et l'anaphylaxie (Études sur le ferment lactique) (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXII, 1554, 1921).
172. — L'accoutumance du ferment lactique aux poisons (Spécificité, simultanée et alternance) (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXIV, 345, 1922).

173. RICHET (CHARLES), BACHRACH (EUDOXIE) et CARDOT (HENRY). — Études sur la fermentation lactique. Le souvenir chez les microbes (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXIV, 842, 1922).
174. — De la simultanéité de deux effets toxiques contradictoires (Accoutumance et anaphylaxie) sur la même cellule (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXVIII, 535, 1924).
175. RICHET (CHARLES) et CARDOT (HENRY). — Influence d'élévations thermiques faibles et brèves sur la marche des fermentations (*C. R. Ac. Sc.*, CLXIII, 954, 1916).
176. — Des antiseptiques réguliers et irréguliers (*C. R. Ac. Sc.*, CLXV, 491, 1917).
177. — De l'action des mélanges de quelques sels sur la fermentation lactique (*Soc. de biologie*, LXXXI, 751, 1918).
- 177 bis. — Mutations brusques dans la formation d'une nouvelle race microbienne (*C. R. Ac. Sc.*, CLXVIII, 657, 1919).
178. RICHET (CHARLES), CARDOT (HENRY) et BACHRACH (EUDOXIE). — Accoutumance et sélection du ferment lactique dans les milieux toxiques (*Journ. phys. et path. gén.*, XVIII, 466-479, 1921).
179. RICHET (CHARLES), CARDOT (HENRY) et LE ROLLAND (PAUL). — Des antiseptiques réguliers et irréguliers (*C. R. Ac. Sc.*, CLXIV, 669, 1917).
180. RICHET (CHARLES) et LE BER (A.-G.). — Études sur la fermentation lactique. Action à très faibles doses de substances en apparence inoffensives (*C. R. Ac. Sc.*, CLXXV, 1020, 1922).
181. RICHTER (O.). — Ueber die Anpassung der Süßwasseralgen an Kochsalzlösungen (*Flora*, LXXV, 4, 1892). Cité d'après Pringsheim.
182. RÖHL. — *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1909, n° 11, p. 494.
183. ROSENTHAL (GEORGES). — Méthode de transformation progressive des microbes anaérobies stricts en microbes aérobies (*Soc. de biologie*, LV, 1292, 1903).
184. ROTHENBACH. — *Zeitschr. f. Spiritusindustrie*, 1896, p. 327. Cité d'après Pringsheim.
185. SARTORY. — *Thèse Fac. Sc. Paris*, 1908.
186. SCHIERBECK. — Ueber die Variabilität der Milchsäurebakterien in Bezug auf die Gärfähigkeit (*Archiv f. Hygien*, XXXVIII, 294, 1909).
187. SCHRÖDER (H.). — *Jahresbuch f. wiss. Botan.*, XLIV, 407, 1907.
188. SLATOR (A.). — Studies in fermentation. I. The chemical dynamics of alcoholic fermentation by yeast (*Trans. Chem. Soc.*, LXXXIX, 128, 1906). II. The mechanism of alcoholic fermentation (*Ibid.*, XCIII, 317, 1908).
189. VAN STEENBERGE (PAUL). — Les propriétés des microbes lactiques. Leur classification (*Ann. Inst. Pasteur*, XXXIV, 803-870, 1920). Important mémoire sur la classification des ferments lactiques d'après leurs propriétés physiologiques.
190. TRAMBUSTI. — Contributo sperimentale alla legge dell' adamento dei microorganismi sui mezzi antisettici (*Lo sperimentale*, XLVI, 1892).
191. TSIKLINSKY. — Sur les microbes thermophiles des sources thermales (*Ann. Inst. Pasteur*, XIII, 788-795, 1899).

192. DE VRIES. — Espèces et variétés (*Bibl. Sc. intern.*, 1 vol. 548 p. Trad. Blaringhem, Alcan, 1909).
193. WERBITZKY. — Ueber blepharoplastlose Trypanosomen (*Centralbl. f. Bakt.*, LIII, 1910).
194. WORTMANN. — *Zeits. f. physiol. Chem.*, VI, 316, 1882).
195. WÜTHRICH. — Ueber die Einwirkung von Metallsalzen und Säuren auf die Keimfähigkeit einiger der verbreitetsten parasitischen Pilze unserer Kulturpflanzen (*Zeits. f. Pflanzenkrank*, II, 16, 1889).
-

## TABLE DES MATIÈRES

---

|                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|
| INTRODUCTION .....                                                    | 73  |
| CHAPITRE PREMIER. — GÉNÉRALITÉS ET MÉTHODES.....                      | 76  |
| De la fermentation lactique.....                                      | 76  |
| Origine et caractères du bacille utilisé.....                         | 77  |
| Préparation du milieu de culture.....                                 | 79  |
| Influence de l'acidité initiale sur la fermentation.....              | 79  |
| Conditions de fermentation et d'ensemencement.....                    | 82  |
| Dosage des cultures.....                                              | 83  |
| Fermentations en milieux toxiques.....                                | 88  |
| CHAPITRE II. — ACCOUTUMANCE DES MICROORGANISMES AUX TOXIQUES.         | 91  |
| Historique.....                                                       | 91  |
| Recherches personnelles.....                                          | 93  |
| Limite de l'accoutumance.....                                         | 98  |
| CHAPITRE III. — DIMINUTION DE LA RÉSISTANCE VIS-A-VIS DU TOXIQUE.     | 103 |
| Expériences avec $\text{HgCl}_2$ .....                                | 103 |
| Expériences avec $\text{CuSO}_4$ .....                                | 106 |
| Expériences avec $\text{TINO}^3$ .....                                | 106 |
| Rapports entre l'accoutumance et la sensibilisation.....              | 107 |
| CHAPITRE IV. — SPÉCIFICITÉ DES VARIATIONS.....                        | 113 |
| Spécificité de l'accoutumance.....                                    | 113 |
| Spécificité de la sensibilisation.....                                | 117 |
| Étude de divers cas de spécificité.....                               | 118 |
| CHAPITRE V. — ACCOUTUMANCE SIMULTANÉE A PLUSIEURS TOXIQUES.           | 121 |
| Accoutumance simultanée à deux poisons.....                           | 123 |
| Accoutumance et sensibilisation simultanées.....                      | 124 |
| Modifications produites par l'action simultanée de plusieurs poisons. | 126 |
| Accoutumance dans l'intoxication par deux poisons agissant alter-     |     |
| nativement .....                                                      | 127 |
| CHAPITRE VI. — QUELQUES REMARQUES SUR LE MÉCANISME ET LES             |     |
| MODALITÉS DE LA VARIATION.....                                        | 131 |
| Sélection des germes résistants.....                                  | 132 |

# TABLE DES MATIÈRES

167

|                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| Acquisitions de caractères nouveaux.....                                   | 138 |
| Variations morphologiques accompagnant les variations physiologiques ..... | 140 |
| Autres exemples d'adaptation.....                                          | 141 |
| Variations brusques.....                                                   | 143 |
| Mécanisme physico-chimique de l'accoutumance.....                          | 145 |
| CHAPITRE VII. — STABILITÉ DES CARACTÈRES ACQUIS.....                       | 148 |
| Historique.....                                                            | 148 |
| Recherches personnelles.....                                               | 150 |
| CONCLUSIONS .....                                                          | 154 |
| INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....                                                 | 156 |

## DEUXIÈME THÈSE

---

### PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

GÉOLOGIE :

Les Actions désertiques.

BOTANIQUE :

La Sexualité chez les Levures.

Vu et approuvé :

Paris, le 12 avril 1924.

*Le Doyen de la Faculté des Sciences,*

M. MOLLIARD.

Vu et permis d'imprimer :

*Le Recteur de l'Académie de Paris,*

P. APPELL.



